

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Marburg/Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. H. Hensel

Temperatureinflüsse auf die Spontanaktivität
isolierter Darm-Muskulatur, unter besonderer
Berücksichtigung der Minutenrhythmik

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Dietrich von Loh

aus Hannover

Marburg 1969

Temperatureinflüsse auf die Spontanaktivität
isolierter Darm-Muskulatur, unter besonderer
Berücksichtigung der Minutenrhythmik

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Dietrich von Loh

aus Hannover

Marburg 1969

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 14.7.1969

gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. P. Karlson

Referent: Prof. Dr. med. K. Golenhofen

Correferent: Prof. Dr. med. G. Hildebrandt

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literaturangaben zur Minutenrhythmik	2
1. Digestionstrakt	2
2. Urogenitalsystem	2
3. Kreislaufsystem	3
4. Respirationstrakt	5
5. Zentral gesteuerte Minutenrhythmik	5
III. Methodik	6
1. Präparation	6
a) Zur extrazellulären Messung	6
b) Zur intrazellulären Messung	6
2. Nährlösungen	9
3. Versuchsanordnung	9
a) Extrazelluläre Meßanordnung	9
b) Intrazelluläre Meßanordnung	11
4. Durchführung der Versuche	15
a) Extrazelluläre Messung	15
b) Intrazelluläre Messung	16
IV. Ergebnisse	19
1. Spontanverhalten der Taenia coli bei 35° C	19
a) Extrazelluläre Messung	19
b) Intrazelluläre Messung	25
c) Frequenzmittelwerte aus beiden Versuchsreihen	26
2. Einfluß von Temperatursenkungen auf die Spike-Frequenz	30
Anhang: Anmerkungen zum Q ₁₀ -Wert	
3. Einfluß von Temperatursenkungen auf die Frequenz der Minutenrhythmik	34
4. Einfluß von Temperatursenkungen auf die minutenrhythmischen Fluktuationen des basalen Membranpotentials	46

V.	Diskussion	Seite 52
1.	Vergleich der Ergebnisse mit den Angaben anderer Autoren	52
2.	Zum Mechanismus der Minutenrhythmik	55
3.	Versuch einer funktionellen Eingliederung der Minutenrhythmik in den Gesamtverband biologischer Rhythmen	57
VI.	Zusammenfassung	61

Anhang

Tabellen

Literaturverzeichnis

I. EINLEITUNG

An den verschiedenen Formen der glatten Muskulatur zeigt sich in unterschiedlicher Ausprägung eine grundsätzliche Eigenschaft biologischer Strukturen: die Neigung zu spontaner, rhythmischer Erregungsbildung. Diese Fähigkeit, die bei primitiven Organismen zumeist deutlich in Erscheinung tritt, ist bei vielen der hochdifferenzierten, im Dienste spezifischer Organfunktionen stehenden Vertebraten-Gewebe weitgehend unterdrückt.

Als Standardpräparat für Untersuchungen zur Eigenaktivität der glatten Intestinal-Muskulatur findet die isolierte Längsmuskulatur des Meerschweinchen-Caecums (*Taenia coli*) seit langem Verwendung (Erwähnung z.B. bei BOZLER 1938).

Bei aller Variabilität in der Spontanaktivität der einzelnen glattemuskulären Strukturen ist ein nahezu obligat auftretendes, die histogenetische Verwandtschaft betonendes rhythmisches Phänomen evident: Neben unterschiedlichen organspezifischen Eigenrhythmen findet sich fast stets eine spezielle Form der rhythmischen Aktivität, die sich in einer verhältnismäßig trägen, der primär höherfrequenten Spontanaktivität aufmodulierten Periodik mit einer Schwingungsdauer von ca. 30 sec - 5 min äußert. Tatsächlich wurden derartige "Minutenschwankungen" (WEITZ u. VOLLERS 1926) an nahezu sämtlichen bisher untersuchten glattemuskulären Elementen des menschlichen und tierischen Organismus festgestellt, so daß sie geradezu als ein Charakteristikum dieser Gewebsart angesehen werden können.

Aussagen über den Einfluß von Temperaturänderungen auf die Spontanaktivität der *Taenia coli* haben ihre Bedeutung zunächst einmal darin, Bausteine zu einer umfassenden phänomenologischen Beschreibung des komplexen rhythmischen Geschehens an der glatten Muskulatur zu liefern. Sie wiederum kann die Basis für die Diskussion von Elementarfragen, u.a. der nach einem möglichen Mechanismus des rhythmischen

Prozesses bilden. In Hinblick auf die Minutenrhythmik dürften Untersuchungen zur Temperaturabhängigkeit von speziellem Interesse sein, da die Befunde mit zur Klärung einer weiteren Grundfrage beitragen können: nämlich der nach einer funktionellen Eingliederung der Minutenrhythmik in den Gesamtverband rhythmischer Lebensvorgänge, deren Frequenzen einen Skalenbereich von 1000/sec (Nervenaktion) bis 1/Jahr (vegetative Jahresrhythmik) umfassen (HILDEBRANDT 1958, 1967). Denn anders als die höherfrequente, auf unterschiedliche Weise spezifischen Organleistungen dienende Eigenrhythmik ist die langsamere Minutenrhythmik in ihrer eigentlichen Funktion als wohl grundsätzliche Eigenschaft fast sämtlicher glattemuskulären Gewebe bisher wenig geklärt.

II. LITERATURANGABEN ZUR MINUTENRHYTHMIK

1. Digestionstrakt

MAGNUS beobachtete bereits 1904 bei Untersuchungen an isolierten Dünndarmpräparaten der Katze "langsame Tonuschwankungen" mit Periodenlängen zwischen 20 und 100 sec. Peristaltikunabhängige minutenrhythmische Tonusänderungen der Intestinalmuskulatur des Menschen in situ beschrieben WEITZ u. VOLLERS (1925 u. 1926). Elektrophysiologisch wurden diese Befunde später durch Untersuchungen von BOZLER (1938) und BÜLBRING (1957a) an der isolierten Längsmuskulatur des Meerschweinchen-Blinddarmes (*Taenia coli*) bestätigt: Hier fanden sich Salven von schnellen Membranpotentialänderungen (Aktionspotentiale oder "Spikes"), begleitet von spontanen Kontraktionen im Minutenrhythmus.

2. Urogenitalsystem

Genauere Beschreibungen von Eigenbewegungen des Uterus gaben 1923 LUDWIG u. LENZ, die bei Beobachtungen am ex-

perimentellen Bauchfenster des Kaninchens rhythmische Kontraktionswellen im Abstand von 1,5 - 6 min ablaufen sahen. Ebenfalls 1923 stellte KEYE am isolierten Uterus-Streifenpräparat neben kleineren Wellen mit höherer Frequenz solche mit größerer Amplitude und Periodenlängen von 1,5 - 2,5 min fest. Deutliche Tonusschwankungen des menschlichen Uterus in situ im "1-Minutenrhythmus" registrierten wiederum WEITZ u. VOLLERS (1927). Darüberhinaus fanden sie minutenrhythmische Änderungen an Blase, Scrotum und Penis.

BOZLER zeigte 1938 am Streifenpräparat des Uterus, daß die spontanen Tonusänderungen ihr elektrophysiologisches Korrelat in periodischer Spike-Aktivität haben.

3. Kreislaufsystem

Spontane Rhythmen des Gefäßsystems sind seit langem bekannt. Bereits JONES (1851) und SCHIFF (1854) (zitiert nach BÜRGI 1945) machen Angaben über periodische Kaliberschwankungen an menschlichen Arterien in situ. Ihre Frequenz war später Gegenstand eingehender Untersuchungen von STEPANOW (1919), der Periodenlängen von ca. 30 sec und gelegentliche Zwischenwellen von mehreren Minuten Dauer beobachtete.

Dem Bereich minutenrhythmischer intestinaler Durchblutungsänderungen dürften Befunde von ROY (1881) und BARCROFT et al. (1932) zuzuordnen sein, die periodische Schwankungen des Milzvolumens beschrieben. DEMLING u. GROMOTKA (1957) und GRAF et al. (1958) sahen rhythmische Änderungen der Leber- und Darmdurchblutung im Minutenbereich. BURTON (1939) berichtete über eine ähnliche Rhythmizität der Hautdurchblutung.

GOLENHOFEN u. HILDEBRANDT (1957 a und b) untersuchten spontane minutenrhythmische Schwankungen der Muskeldurchblutung und stellten ihre Abhängigkeit von zentralnervöser Steuerung fest. Dagegen offenbarte sich die Gefäßmuskel-Eigen-

frequenz in periodisch gedämpften Auslenkungen der Gefäßweite von doppelter Dauer (ca. 2 min) nach mechanischer oder pharmakologischer Irritation als Ausdruck einer nervenunabhängigen, lokalen Reaktion (GOLENHOFEN 1962a). Auf eine minutenrhythmische Schwingungsfähigkeit von Extremitätenvenen in situ weisen Ergebnisse von LUTZ (1966) hin, der - auch nach nervöser Isolierung - mittels periodischer, sinusförmiger Druckerhöhungen eine vaso-konstriktorische "Resonanzfrequenz" im Minutenbereich fand.

Auch an isolierten Gefäßpräparaten wurden Spontankontraktionen nachgewiesen: FULL (1913) registrierte an Arterienstücken Periodenlängen zwischen 30 sec und 9 min. Von BÜRGI (1944) mit verfeinerter Technik ermittelte Werte lagen zwischen einer und mehreren Minuten. BRECHT et al. (1964) gaben für Arterien- und Venenpräparate vom Rind Kontraktionswellen von 2 - 3 min Dauer an. Minutenrhythmische Kontraktionen an Präparaten von (nervenfremen) menschlichen Umbilikal-Gefäßen beschrieben SOMLYO et al. (1965).

Unter besonderen Umständen gelingt es auch, kardiale Minutenrhythmik zu registrieren, was evtl. als ein Hinweis auf die enge funktionelle Verwandtschaft des Herzmuskels zur glatten Muskulatur gelten darf. LUCIANI (1873) beobachtete periodische Schwankungen der Spontanitätigkeit des isolierten Froschherzens. Gleichartige Periodik sah LANGENDORF (1908) am Froschherzen in situ nach Abklemmung der Ventrikel vom übrigen Herzgewebe. ABDERHALDEN u. GELLHORN (1920) wiesen sie später auch am Herz-Streifenpräparat nach. Luciani-Perioden wurden von SCHELLONG (nach ROTHBERGER 1926) am Menschen in agonaler Phase beobachtet. Die Tatsache, daß sich eine derartige Periodik bevorzugt am geschädigten Herzmuskel (nach O₂-Mangel, mechanischer Läsion etc.) manifestiert, läßt den Schluß zu, das Myokard sei zwar grundsätzlich ebenfalls zu minutenrhythmischer Aktivitätsmodulation befähigt, lasse diese Eigenschaft

aber normalerweise unter der Dominanz des spezifischen erregungsbildenden Schrittmacher-Areals nicht zur Geltung kommen.

Von HILDEBRANDT u. GOLENHOFEN (1957) eingehender untersuchte spontane minutenrhythmische Änderungen der menschlichen Pulsfrequenz synchron mit Muskeldurchblutungsschwankungen dürften - ebenso wie die letzteren - ihre Ursache in zentral-nervöser Steuerung haben (vergl.II.5.).

4. Respirationstrakt

Befunde von BRECHT (1967) sprechen dafür, daß auch die glattmuskulären Elemente des Respirationstraktes die Fähigkeit zu minutenrhythmischer Spontanität besitzen. Er beobachtete periodische Kontraktionen an der glatten Muskulatur der Froschlunge in Abständen von ca. 2,5 min.

5. Zentral gesteuerte Minutenrhythmik

Daß minutenrhythmische Prozesse im Organismus nicht zwingend myogenen Ursprunges sein müssen, sondern gelegentlich auch als Ausdruck einer zentralnervösen Steuerung - wohl im Sinne einer Anpassung zentraler Impulse an periphere Gegebenheiten (GOLENHOFEN 1962b) - gewertet werden können, wurde im Abschnitt II/3 bereits erwähnt. Hier einzuordnen sind weiterhin Befunde von HILDEBRANDT (1961), der parallel zu spontanen minutenrhythmischen Muskeldurchblutungsschwankungen Änderungen der Ventilationsgröße der Atmung beobachtete, und Ergebnisse von STUTTE (1967), der bei Untersuchungen zur Puls-Atmungskopplung spontane Wechsel der Bevorzugung einzelner Koinzidenz Gipfel in ca. einminütigen Abständen fand.

III. METHODIK

1. Präparation

300 - 600 g schwere Meerschweinchen wurden durch Nackenschlag und Ausbluten getötet. Nach Eröffnung des Bauchraumes wurde das Caecum aufgesucht und von seiner streifenförmig ausgebildeten Längsmuskulatur (*Taenia coli*) möglichst rasch ein Gewebsstück von gewünschter Länge abpräpariert.

Die Präparation gestaltete sich unterschiedlich, je nach Art der Meßmethode:

a) Zur extrazellulären Messung

Am frisch geöffneten Tier wurde die Präparatlänge in situ festgelegt, indem wir mit zwei Einschnitten im erforderlichen Abstand (gewöhnlich 30 mm, bei einigen Versuchen auch 20 bzw. 40 mm) Markierungen an der *Taenia* setzten. In dieser Länge präparierten wir den Längsmuskelstreifen von der darunterliegenden Ringmuskulatur ab. Das Gewebestück wurde kurzfristig in Präparierlösung (Zusammensetzung s.u.) bei Zimmertemperatur aufbewahrt, an seinen Enden mit dünnen Perlonfäden versehen und derartig vorbereitet schließlich in die Meßapparatur eingebracht.

b) Zur intrazellulären Messung

Im Prinzip handelt es sich um die von BÜLBRING (1954) beschriebene Methode, die für unsere Zwecke leicht modifiziert wurde.

Nach Freilegung des Caecums wurde der Taenienstreifen an einer Stelle durchtrennt. Durch Weiterführung des Schnittes in die darunterliegende Ringmuskulatur ergab sich eine spaltförmige Öffnung, in die mit einer gebogenen Pinzette zwischen Submukosa und zirkulärer Muskelschicht eingegangen werden konnte. Durch behutsames Verschieben und Spreizen der Pinzettenblätter wurden die beiden Gewebslagen in einem kleineren Areal stumpf voneinander gelöst.

Unter die abgehobene Ringmuskulatur brachten wir ein rundes Plexiglas-Plättchen (Durchmesser 5 mm, Stärke 1 mm) das zur leichteren Handhabung und zur späteren Fixierung innerhalb der Versuchsanordnung einem schmalen Flachstück (ebenfalls aus Plexiglas, 25 x 5 x 2 mm) aufgesetzt war. Der Rand der Scheibe trug eine ca. 1 mm tief einge-
fräste Nut. (Abb. 1) Das Plättchen wurde derartig gelagert, daß es allseitig von Ringmuskulatur bedeckt war und die darauf gelegene Längsmuskulatur als schmales Band quer darüber verlief. Daraufhin führten wir einen Perlonfaden ringförmig so um das Plättchen, daß er auf der Seite des noch mit dem übrigen Gewebe in Zusammenhang stehenden Taenien-Teiles zwischen Ring- und Längsmuskulatur hindurch, am gegenüberliegenden Rand (im Bereich der Taenien-durchtrennung) jedoch über beide Schichten hinweg verlief. Durch Straffziehen und Verknoten der Fadenenden wurde das zirkuläre Muskelblatt (und einseitig also auch der Längsmuskelstreifen) derartig in der Plättchennut fixiert, daß sich die beiden aneinanderhaftenden Schichten trommelfellgleich über die Scheibe spannten (Abb. 2). Der über den Plättchenrand hinausgehende Taenien-Teil wurde in einer in-situ-Länge von ca. 6 - 12 mm freipräpariert und am Ende durchtrennt.

Dicht unterhalb seiner Einschnürung in der Plättchenrinne schnitten wir das aufgespannte Präparat vom übrigen Gewebe ab. Während kurzfristiger Aufbewahrung in Präparierlösung bei Zimmertemperatur wurde dem freien Taenien-Ende ein Perlonfaden angeschlungen.

Die *Taenia coli* ist bei diesem Verfahren durch ihre Fixation an die ausgespannte Ringmuskulatur in $1/3$ bis $1/2$ ihrer Gesamtlänge optimal ausgebreitet und in ihrer Bewegungsfreiheit weitgehend eingeschränkt, wodurch die Penetrationen der Mikroelektroden erleichtert und Registrierungen auch bei Spontankontraktionen ermöglicht werden.

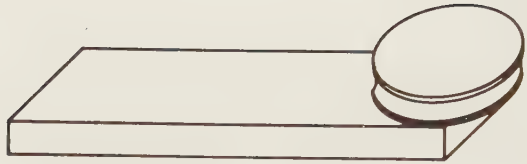


Abb. 1 Präparatsträger für intrazelluläre
Potentialableitungen an der *Taenia coli*.

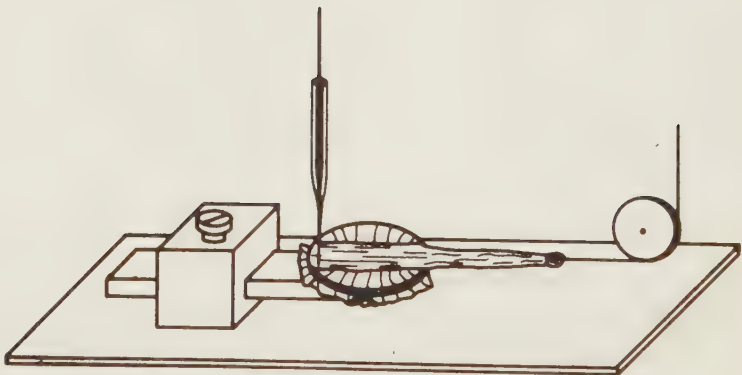


Abb. 2 Zur intrazellulären Potentialableitung
vorbereitetes Präparat der *Taenia coli*.

Der übrige freie Teil steht zur Aufzeichnung mechanischer Aktivität zur Verfügung (Abb. 2).

2. Nährlösungen

Lösungen folgender Zusammensetzung wurden verwendet:

a) Krebs-Lösung (nach KREBS und HESELEIT 1932; leicht modifiziert: MgCl_2 statt MgSO_4).

mmol/l: Na^+ 137; K^+ 5,9; Mg^{++} 1,2; Ca^{++} 2,5; Cl^- 118,5;
 H_2PO_4^- 1,2; HCO_3^- 31; Glukose 11,5 .

Die Nährlösung wurde durch Mischen entsprechender Mengen von isotonischen Stammlösungen unmittelbar vor Versuchsbeginn hergestellt und im Vorratsgefäß mit 5% CO_2 und 95% O_2 äquilibriert (pH-Wert ca. 7,3). Die gegen Bakterienbefall besonders empfindliche Glukose-Stammlösung wurde zu jedem Versuch neu angesetzt.

b) Präparierlösung

mmol/l: Na^+ 144; K^+ 5,9; Ca^{++} 3,7; Cl^- 157.

3. Versuchsanordnung

a) Extrazelluläre Meßanordnung (Abb. 3)

Der Versuchsaufbau ähnelt in Grundzügen der von BÜLBRING und GOLENHOFEN (1967) beschriebenen, zu gleichzeitiger Registrierung von Spontanaktivität und O_2 -Verbrauch verwendeten Apparatur.

(Weitere Literatur zur Technik der extrazellulären Potentialableitung an glatter Intestinalmuskulatur: BERKSON 1933, BOZLER 1938, BORTOFF 1961, DELGADO 1964, PROSSER u. BORTOFF 1968.)

Zur Aufnahme des Präparates diente eine Meßkammer in Form einer Glaskapillare von 50 mm Länge und 2 mm Innendurchmesser.

Nährlösung (Krebs-Lösung) floß aus einem höher gestellten Vorratsgefäß über einen Gummischlauch zu, durchströmte die horizontal ausgerichtete Meßkapillare von der Mitte her und tropfte beidseitig an den Enden gleichmäßig ab.

Die elektrische Spontanaktivität wurde bipolar durch paarweise in die Kapillarwandung eingeschmolzene Platindrähte (Abstand zweier Elektroden: 5 mm) abgeleitet, die halbkreisförmig in das Lumen ragten und dort in direkten Kontakt mit der Muskeloberfläche oder zumindest in deren unmittelbare Nähe gelangten. (Platin ist nach DELGADO (1964) auf Grund seiner bei geringem Stromfluß nur sehr schwachen Polarisierbarkeit bereits ohne Vorbehandlung - z.B. Chlorierung - zur extrazellulären Potentialableitung relativ gut geeignet.) Die Potentialänderungen wurden einem Wechselstrom-Vorverstärker (RM 122, Fa. Tektronix, Beaverton, Oregon; Eingangsimpedanz: 2 Megohm, 50 pF; Bandbreite: 0,2 Hz - 40 kHz $\pm$ 3 db) und anschließend einem Direktschreiber (Fa. Schwarzer, München) zur Registrierung zugeleitet.

Die mit den Taenien-Enden verknüpften Perlonfäden führten zu beiden Seiten aus der Kapillare. Während ein Faden zur Fixierung des Muskelstreifens in gewünschter Position diente, wurden über den anderen die unter praktisch isometrischen Bedingungen ablaufenden Spontankontraktionen auf einen induktiv arbeitenden mechano-elektrischen Transducer (Verlagerungsaufnehmer PR 9310, Fa. Philipps, Hamburg) in Kombination mit einer Trägerfrequenz-Meßbrücke (PR 9303, Fa. Philips, Hamburg) übertragen und anschließend mit dem obengenannten Direktschreiber aufgezeichnet (Literatur: LION 1964).

Zur Abschirmung gegen äußere elektrische Störfelder war die Meßkammer in einem geerdeten, lediglich an der Vorderseite offenen Metallgehäuse untergebracht.

Das gesamte der Präparataufnahme und -versorgung dienende System, bestehend aus der in einen Glasmantel eingeschmolzenen Meßkammer, dem doppelwandigen Lösungsbehälter und dem in einer Plastik-Umhüllung befindlichen Zuleitungsschlauch einschließlich des Durchflußreglers, konnte mit Wasser, das von einem Thermostaten (NB/DS - 696, Fa. Colora, Lorch) auf konstanter Temperatur gehalten wurde, umspült und damit gleichmäßig temperiert werden.

Größeren CO_2 -Verlusten und daraus resultierenden pH-Wert-Änderungen der Nährlösung infolge von Gasdiffusion durch die Schlauchwandung in die äußere Thermostaten-Flüssigkeit wurde durch verschiedene Maßnahmen entgegengewirkt: Kurzhaltung der Zuleitung (ca. 50 cm), Verwendung eines relativ dickwandigen Schlauches (Wandstärke 0,7 mm bei 1,2 mm Innendurchmesser) aus Gummi - teilweise wurden auch Glaskapillarsegmente benutzt, die durch Gummielemente verbunden waren - und ausreichende Bemessung der Durchflußmenge (nicht unter 2 ml/min).

Zur Erzielung tieferer Temperaturen wurde ein Kühlaggregat (Tauchkühler TK 64, Fa. Colora, Lorch) verwendet. Die Temperatur-Differenz zwischen Kapillarlumen und Thermostat betrug bei Einstellung auf 35°C unter Versuchsbedingungen (konstanter Nährlösungsdurchfluß, Raumtemperatur $18 - 20^{\circ}\text{C}$) weniger als $0,1^{\circ}\text{C}$, so daß mit dem Thermostaten-Wert jeweils auch die Temperatur der Meßkammer gegeben war.

b) Intrazelluläre Meßanordnung (Abb. 4)

Der Aufbau der Versuchsanordnung erfolgte in Anlehnung an die von BÜLBRING (1954) zum ersten Mal zur intrazellulären Potential-Messung an der *Taenia coli* verwendete Apparatur. (Ausführliche Literatur zur Methodik: MURALT 1958, NASTUK 1964)

Das in der oben beschriebenen Weise vorbereitete Präparat wurde mit dem an der Plättchenunterseite befestigten Flachstück in einer Führung am Boden einer Meßkammer aus Plexi-

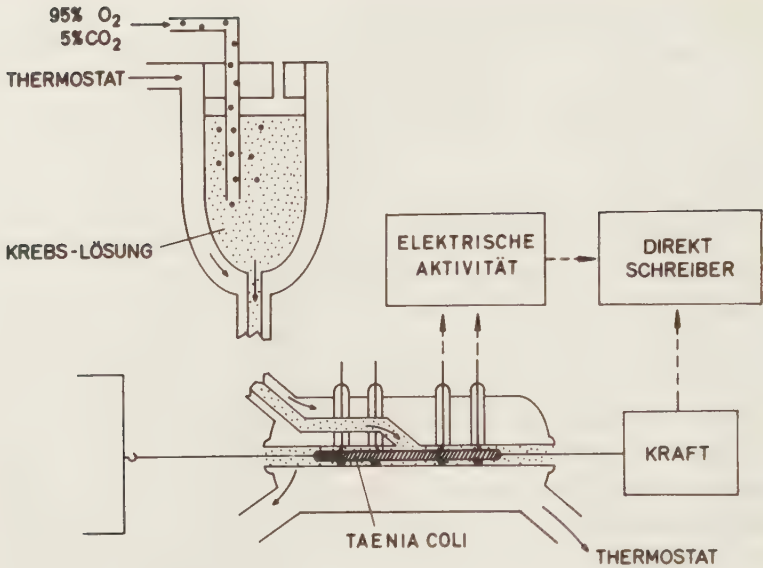


Abb. 3 Schema der Versuchsanordnung zur extrazellulären Potentialableitung.

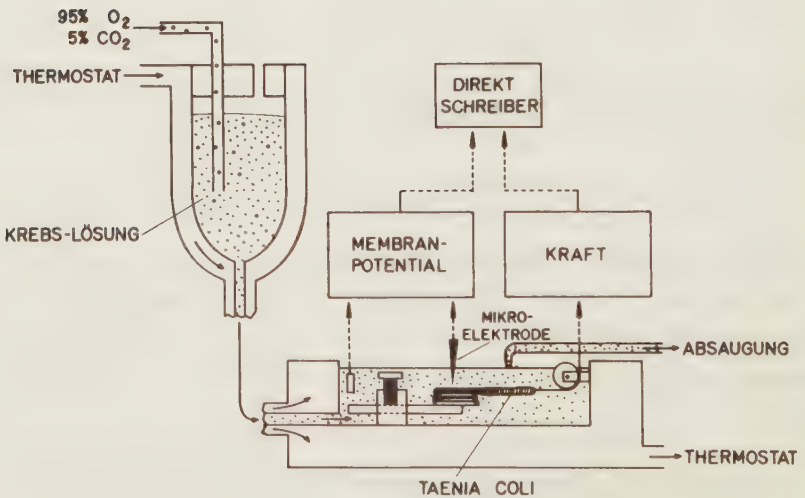


Abb. 4 Schema der Versuchsanordnung zur intrazellulären Potentialableitung.

glas (Volumen: 15 cm^3) fixiert (Abb. 2 u. 4).

Nährlösung (Krebs-Lösung) floß aus einem Vorratsgefäß über eine Schlauchleitung von unten her in die Kammer ein und wurde an ihrer offenen Oberseite in regulierbarer Höhe abgesaugt.

Das gesamte System konnte - entsprechend der zuvor beschriebenen Anordnung - mit in der Doppelwandung zirkulierender Thermostatenflüssigkeit auf konstanter Temperatur gehalten werden. Die jeweilige Organbad-Temperatur war über ein in Glas eingeschmolzenes Cu/Konstantan-Element als Differenzbetrag gegenüber einer Bezugslötstelle in einem zweiten Thermostaten an einem Thermospannungsmesser (Fa. Knick, Berlin) abzulesen (Literatur: LION 1964). Bei einigen Versuchen wurden die Meßwerte parallel zu der elektrischen und mechanischen Spontanaktivität mit dem unten näher bezeichneten Direktschreiber registriert.

Die Ableitung des Membranpotentials erfolgte intrazellulär über Glas-Mikroelektroden (nach LING u. GERARD 1949), die mit einem mechanischen Ziehgerät vom Livingston-Typ (Literatur: FRANK u. BECKER 1964) hergestellt und mit 3-molarer KCl-Lösung (nach NASTUK u. HODGKIN 1950) gefüllt wurden. Der Spitzendurchmesser lag, wie elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben, unter $0,2 \mu$. Der elektrische Widerstand zeigte Werte zwischen $50 - 150 \text{ Megohm}$. Die Mikroelektroden wurden mit ihrem Stamm auf einen ca. 30 mm langen und $0,2 \text{ mm}$ starken, senkrecht hängenden Silberdraht geschoben, der ihnen feinste Bewegungen während spontaner Kontraktionen des Präparates gestattete (nach WOODBURY u. BRADY 1956). Über eine Plexiglas-Halterung konnten mittels eines Mikromanipulators (Fa. Leitz, Wetzlar) die Elektroden in kleinsten Dimensionen bewegt werden. Zur relativ groben optischen Kontrolle der Elektrodenposition diente ein Stereomikroskop mit kontinuierlich variabler Vergrößerung (Fa. Zeiss, Oberkochen).

Das vom Zellinneren gegen eine indifferente Ag-AgCl-Elektrode im Organbad abgeleitete Membranpotential wurde zunächst einem Gleichstrom-Vorverstärker (Negativ-Kapazitäts-Elektrometer 14C 30/40, Fa. Disa, Herlev, Dänemark) zugeführt, der sich durch seinen extrem hohen Eingangswiderstand (10^{12} Ohm), seinen niedrigen Gitterstrom (10^{-12} A) und seine gering gehaltene Eingangskapazität (<1 pF) auszeichnete. (Kombination des Kathodenfolger-Prinzips mit dem der Kapazitäts-Kompensation durch "positive Rückkopplung", Literatur: MURALT 1958.)

Sichtbar wurden die elektrischen Membranphänome auf zwei Kathodenstrahl-Oszillographen, von denen der erste (2-Strahl-Oszillograph Typ 565, Fa. Tektronix, Beaverton, Oregon) als Meß-KO auch einer quantitativen Analyse von Höhe und Verlauf sehr schneller Potentialänderungen diente, während der zweite (Großbildmonitor, Typ 279, Fa. Airmec, Buckinghamshire, England) durch seinen großdimensionierten Bildschirm sowie seinen ausgeprägten Nachleuchteffekt das Eindringen der Elektroden in die Muskelzellen leichter kontrollieren ließ. Zur Aufzeichnung konnte für unsere Fragestellung, bei Verzicht auf exakte Angaben über Potentialhöhe und -form, ein relativ träge arbeitender Direktschreiber (Physioscript ST6 s 23, Grenzfrequenz ca. 100 Hz, Fa. Schwarzer, München) verwendet werden.

Die beim Eintauchen der Elektrodenspitze in die Nährlösung auftretenden Potentialdifferenzen (Polarisationspotentiale und "tip-potentials", Literatur: FRANK u. BECKER 1964) konnten mit einer Kompensationseinheit ausgeglichen werden.

Die Spontankontraktionen des Muskelstreifens wurden durch einen dem freien Präparat-Ende angeschlossenen und über eine Rolle geführten Perlonfaden weitergeleitet und in der im vorhergehenden Abschnitt (3a) bereits erläuterten Weise (über Verlagerungsaufnehmer, Meßbrücke und Direktschreiber) registriert.

Entsprechend dem Versuchsaufbau (a) waren auch hier die besonders stöempfindlichen Teile der Anordnung (Organ-kammer, Mikroelektrode, Verstärker-Vorstufe) von einer geerdeten Metallabschirmung umgeben.

4. Durchführung der Versuche

a) Extrazelluläre Messung

Die in die Meßkapillare eingebrachten Taenienstücke, die sich während der Präparation und der anschließenden vorübergehenden Aufbewahrung in Präparierlösung um durchschnittlich ca. die Hälfte ihrer in-situ-Länge verkürzt hatten, erhielten durch entsprechende Vordehnung wieder annähernd ihre Ausgangslänge (gewöhnlich 30 mm).

Zuvor war das gesamte System mit Hilfe des Thermostaten auf eine Temperatur von 35°C gebracht worden. Der Nährlösungsdurchfluß wurde auf ca. 2,5 ml/min (entsprechend einer Tropfenzahl von 50/min an den Kapillarausflüssen) eingestellt. Die Empfindlichkeit des Direktschreibers be-maßen wir so, daß 2 p Kraftentwicklung bzw. 0,1 mV Potent-ialänderung etwa 1 cm Schreibzeiger-Ausschlag bewirkten. Der Papiervorschub wurde unterschiedlich gewählt: 1 cm/min zur übersichtlichen Darstellung der Minutenrhythmik, 6 bzw. 12 cm/min zur Analyse der Spike-Frequenz.

Nach der Irritation durch Präparation, Einbringung in die Kapillare, Vordehnung und Wechsel von Zimmertemperatur auf 35°C benötigte das Gewebe jeweils eine gewisse Erholungs-zeit. Im Mittel waren nach 30 - 40 min regelmäßige Spontan-aktionen registrierbar.

Zur Untersuchung ihres Einflusses auf die Spontantätigkeit wurde die System-Temperatur stufenweise am Thermostaten herabgeregelt: In einem Teil der Versuche durchschritten wir den gesamten Meßbereich in Intervallen von 2°C , in anderen Untersuchungen wurde im oberen Bereich zunächst in

relativ großen Sprüngen ($5 - 10^{\circ} \text{C}$), später bei tieferen Temperaturen jedoch in kleinen Schritten ($0,5 - 1^{\circ} \text{C}$) bis zum Erlöschen der Spontanaktivität gekühlt.

Um dem Gewebe ausreichende Möglichkeit zu geben, sich den jeweils veränderten Verhältnissen anzupassen, wurden bei jedem neu eingestellten Temperaturwert Registrierungen über ca. 30 min durchgeführt.

In einer speziellen Versuchsreihe sollten Reaktionen auf sehr schnelle Temperaturänderungen untersucht werden. Dazu konnte Wasser aus einem 2. Thermostaten, das zuvor auf entsprechend tiefe Temperatur gebracht worden war, durch Umschaltung plötzlich in das System eingeleitet werden.

b) Intrazelluläre Messung

Vor Versuchsbeginn wurde die Organbad-Temperatur auf 35°C gebracht. Der Nährlösungsdurchfluß betrug ca. 4 ml/min.

Die notwendige Vorspannung erhielt das Präparat durch Dehnung seines freien Teiles. Statt der in-situ-Länge, die wegen der speziellen Präparationstechnik hier weniger gut geeignet war, diente als Vergleichsmaß die "Kaltlänge" (vergl. vorhergehenden Abschnitt).

Durch Dehnung auf das Doppelte im Organbad erhielt das freie Taenien-Ende ungefähr wieder sein ursprüngliches Maß.

Zur Registrierung des Membranpotentials führten wir die Mikroelektroden in möglichst nahe am Plättchenrand - im Bereich der Taenien-Fixierung - gelegene Zellen ein, wo die während der Spontankontraktionen auftretenden Gewebverschiebungen verhältnismäßig gedämpft auftraten, so daß die Elektroden auch bei ausgeprägter mechanischer Aktivität leichter intrazellulär verbleiben konnten.

Unter Beobachtung durch das Stereomikroskop brachten wir die Elektrodenspitze zunächst dicht über das Gewebe. Bei

gleichzeitiger Kontrolle am Großbildmonitor wurde nun durch vorsichtige Verstellung des Mikromanipulator-Feintriebes die Elektrode weiter gesenkt, bis leichte Schwankungen der O-Potential-Linie auf eine Berührung der Geweboberfläche hindeuteten.

Kontinuierlich (durch weitere feinste Verstellung) oder sprunghaft (durch vorsichtiges Beklopfen der Grundplatte mit den Fingerspitzen, in der Absicht, den mechanischen Membran-Widerstand unter Ausnutzung der Elektroden-Trägheit stoßweise zu überwinden) versuchten wir nun, die Elektrodenspitze in das Zellinnere zu bringen. Ein Gelingen zeigte sich auf dem zuvor mit 20 mV-Impulsen geeichten Monitor in einem plötzlichen Abfall der Potential-Linie um Werte von ca. 40 - 60 mV und, falls die Penetration in eine aktive Phase fiel, am Auftreten von Spikes an.

Die Zell-Reaktion auf eine Penetration ist unterschiedlich. Häufig läßt sich in den ersten Sekunden eine Phase deutlicher Irritation beobachten, während der - bei noch fehlender Spike-Aktivität - das Membranpotential leichte Tendenz zum Absinken zeigt. Ein folgendes Ansteigen des Potentials ist als Ausdruck einer beginnenden Funktionsnormalisierung nach Abdichtung des gesetzten Membrandefekts, gleichsam einer "Elektroden-Einheilung" zu werten, deren Fortgang sich im Auftreten von zunächst kleinen, langsam zu voller Größe anwachsenden Spikes äußert. Gelegentlich gelingt es auch, unmittelbar nach einer Penetration voll ausgebildete Spikes abzuleiten, was in einem solchen Falle auf das Fehlen einer Zell-Alteration hindeutet und extrem feine Elektrodenspitzen voraussetzt.

Im tieferen Temperaturbereich gestaltet sich die Potentialmessung ungleich schwieriger. Einmal dürften temperaturbedingte mechanische Veränderungen an der Zellmembran die Penetrationen erheblich erschweren, zum anderen scheint auch die Befähigung zur Abdichtung des durch die Elektrode gesetzten "Lecks" weitgehend reduziert: Das Membranpotential sinkt zumeist in kurzer Zeit auf den Nullwert ab, die Zelle

zeigt sich elektrisch stumm. In wenigen Fällen kommt es zur Erholung: Nach einer stark verlängerten "Einheilungszeit" werden Spikes von zunächst geringer Höhe sichtbar, die schließlich - u.U. erst nach 20 - 30 min - volle Größe erreichen können. Untersuchungen im tiefen Temperaturbereich erfordern daher eine besonders sorgfältige Präparation und Aufspannung des Gewebstücks, damit so überhaupt die Voraussetzung für längere intrazelluläre Messungen bei mechanischer Aktivität gegeben ist.

Für die systematischen Temperatursenkungen und die Aufzeichnung der Spontantätigkeit mittels Direktschreibers gilt das im vorhergehenden Abschnitt (4a) Gesagte. Lediglich die Schreiber-Empfindlichkeit wurde für die Registrierung der elektrischen Aktivität, entsprechend den größeren Potentialdifferenzen bei intrazellulären Messungen, auf ca. 15 mV/cm eingestellt.

IV ERGEBNISSE

1. Spontanverhalten der Taenia coli bei 35° C

a) Extrazelluläre Messung

Unter Normalbedingungen (Temperatur um 35° C, ausreichender Nährlösungszufluß, Vordehnung auf in-situ-Länge) zeigt die Taenia coli rhythmische elektrische Aktivität in Form schneller Potentialänderungen mit einer Frequenz von ca. 1/sec ("Spikes"), denen eine langsamere Rhythmik mit einer Periodendauer von 1 - 3 min ("Minutenrhythmik") überformt ist. Synchron mit dieser niederfrequenten Periodik verlaufen tetanische Spontankontraktionen, die unter den annähernd isometrischen Bedingungen innerhalb der Versuchsanordnung als Kraftänderungen zu registrieren sind. Für das geschilderte Verhalten gibt Abb. 5 ein Beispiel. Die Methode der extrazellulären Potentialableitung läßt die Spikes je nach der - in Einzelversuchen nicht immer gleichen - Lage des Präparates zu den Ableitelektroden in unterschiedlicher Form erscheinen (BORTOFF 1961): entweder als biphasische Summenpotentiale größerer Gewebsareale (bei direktem Kontakt beider Elektroden mit der Muskeloberfläche) oder in Form mehrphasischer sog. "field-potentials", welche die Ausbreitung der Potentialänderung in der umgebenden Lösung widerspiegeln (bei fehlender Elektrodenberührung und Potentialableitung aus der Nährlösung in Präparatnähe).

Abb. 6 zeigt die langsame Entwicklung der Spontanaktivität mit immer stärker werdender Ausprägung der Minutenrhythmik nach Versuchsbeginn. Die Einschwingzeit bis zum Erreichen einer konstanten Amplitude und Frequenz kann bis zu 1 Stunde betragen. Unter den obengenannten Bedingungen (und bei zusätzlicher Antibiotika-Gabe zur Hemmung des Bakterienwachstums in Zuleitung und Meßkammer) vermochte das Gewebe über einen Zeitraum von mehr als 20 Stdn. Aktivität zu zeigen. Abb. 7 gibt (ebenso wie schon Abb. 6) Ausschnitte aus der Originalregistrierung eines derartigen "Langzeit-Versuches"

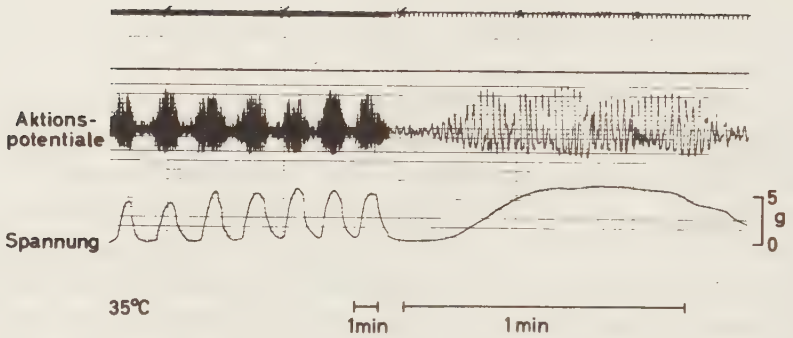


Abb. 5 Spontanverhalten der *Taenia coli* bei 35° C, Registrierung mit zwei verschiedenen Geschwindigkeiten.

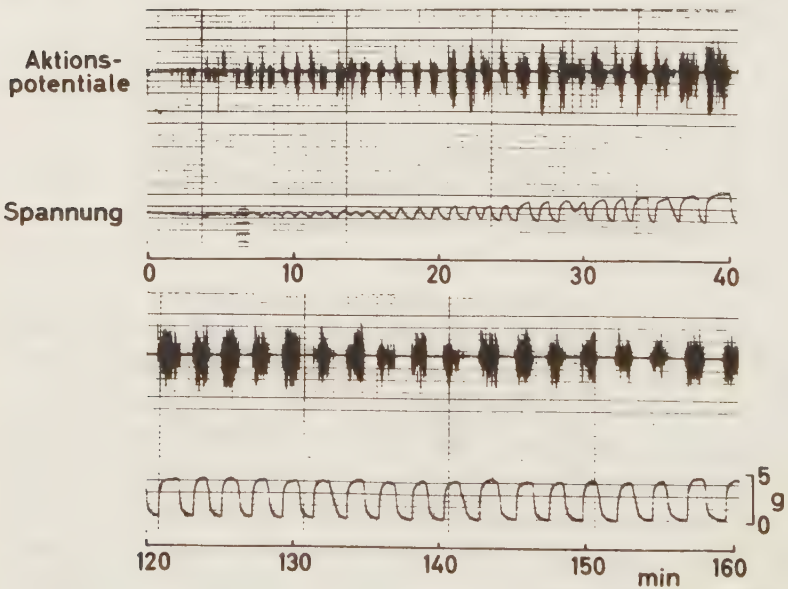


Abb. 6 Entwicklung der Spontanaktivität nach Versuchsbeginn.

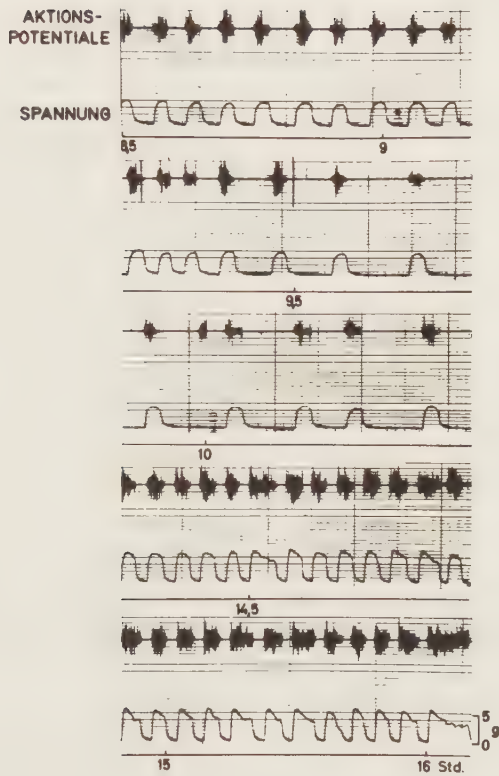


Abb. 7

Ausschnitte aus der Originalregistrierung
eines "Langzeit-Versuches".

(Fortsetzung des Versuches von Abb. 6)

wieder. Hier wird gleichzeitig ein interessantes Phänomen deutlich, das auf ein bei periodischen biologischen Vorgängen häufig zu beobachtendes rhythmologisches Prinzip (HILDEBRANDT 1958, 1962, 1967, GOLENHOFEN 1966, 1969) hinweist: Die Frequenz, über einen längeren Zeitraum hinweg gemessen, erweist sich als inkonstant; sie zeigt Änderungen in Form sprunghafter Wechsel der Periodenlängen, die in deutlich ganzzahligem Verhältnis zueinander stehen. An einer Häufigkeitsverteilung sämtlicher Periodendauern aus diesem Versuch (Abb. 8) läßt sich dieses Verhalten im Hervortreten eines typischen Bandenspektrums klar erkennen.

Gegenüber unterschiedlicher Präparat-Vorspannung besitzt die Frequenz der Minutenrhythmik auffallende Stabilität. Dehnungen auf verschiedene Längen innerhalb der relativ großen Spanne zwischen der Minimal-Vordehnung, die Voraussetzung für eine Spontanitätigkeit zu sein scheint, und solchen Dehnungsgraden, die Verschmelzungen der minutenrhythmischen Aktionen zu ungegliederter Daueraktivität induzieren, beeinflussen zwar Form und Amplitude der spontanen Tonusänderungen, aber kaum ihre Frequenz. Lediglich bei unverhältnismäßig langen Periodendauern, die den Verdacht auf den Ausfall von Zwischenkontraktionen erstehen lassen, kann nach allgemeiner Gewebsaktivierung infolge stärkerer Dehnung eine scheinbare Frequenzänderung durch das Hervortreten der primär höherfrequenten eigentlichen Minutenrhythmik zu beobachten sein (Abb. 9).

Abhängigkeit von der Präparatlänge zeigt die Minutenrhythmik nur insofern, als ihr Auftreten offenbar an eine Mindestlänge von ca. 5 - 3 mm (in situ) gebunden ist. Halbierung einer normal langen (30 mm) Taenia zeigt sich ohne Einfluß auf die Frequenz (Abb. 10).

Gelegentlich kommt es unter Normalbedingungen ohne erkennbare Ursache zur Ausprägung extrem langer Kontraktionsabstände (5 - 10 min u. mehr). Hierbei dürfte es sich kaum um eine

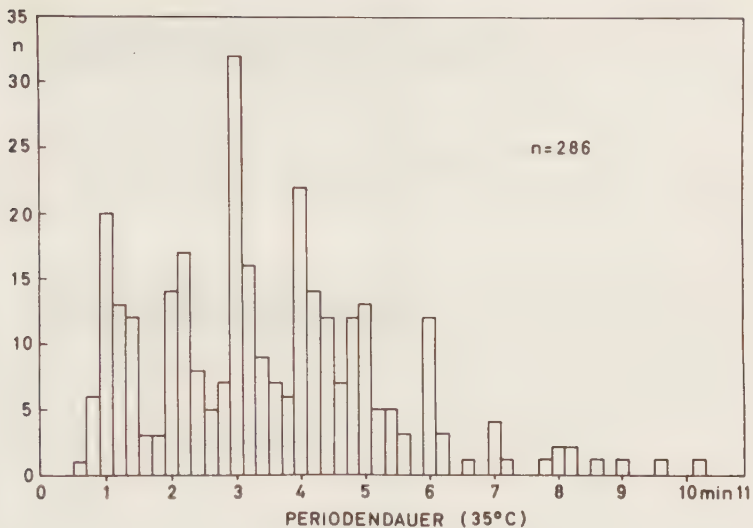


Abb. 8

Häufigkeitsverteilung sämtlicher minutenrhythmischen Periodenlängen des Versuches von Abb. 6 u. 7.

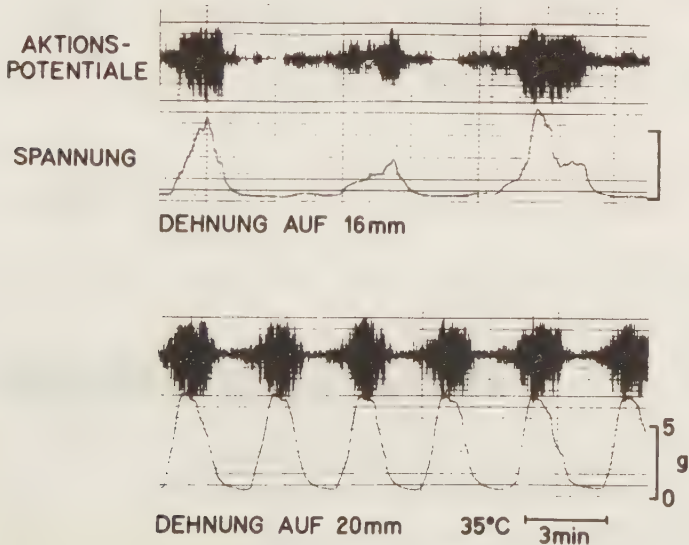


Abb. 9

Minutenrhythmik eines Präparates von 20 mm in-situ-Länge nach Vordehnung auf 16 bzw. 20 mm.

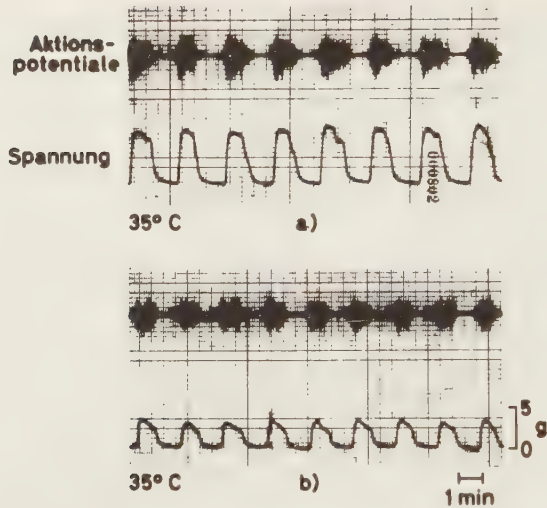


Abb. 10 a) Minutenrhythmik eines Präparates von 30 mm in situ-Länge.
b) Minutenrhythmik eines Teilstückes von 15 mm nach Halbierung des Präparates von a).

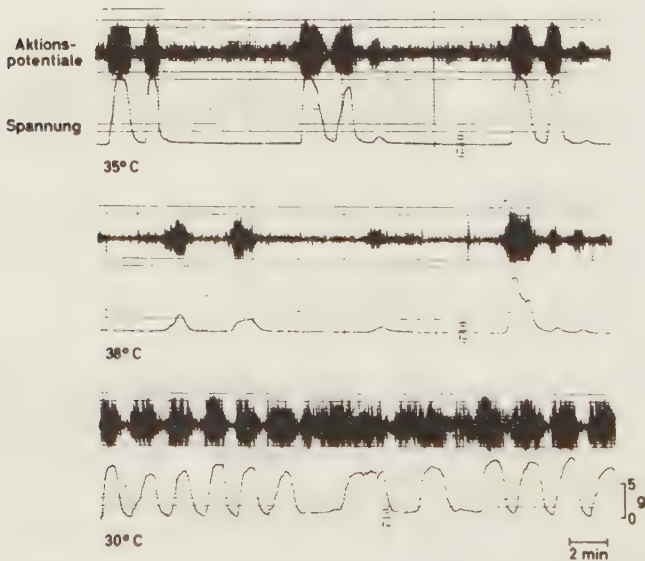


Abb. 11 Abnorm lange Perioden bei 35° C, weitere Verlängerung bei 38° C, Umformung zu normaler Minutenrhythmik bei 30° C.

noch innerhalb der üblichen minutenrhythmischen Frequenz-Variationsbreite (s. Abschnitt IV/1/c) befindliche Periodik handeln, sondern vielmehr um eine stoffwechselbedingte abnormale Aktivitätsäußerung eines eventuell unzureichend versorgten Präparates, wie sie in ähnlicher Form auch von GOLENHOFFEN (1966) bei der Untersuchung von Substratentzugseffekten beobachtet wurde.

Für diese Theorie sprechen die in Abb. 11 wiedergegebenen Originalkurven-Ausschnitte: Bei 35°C finden sich sehr weit auseinanderliegende Aktivitätsphasen, in denen die eigentliche, normalfrequente Rhythmik jedoch angedeutet zu sein scheint. Eine Temperaturerhöhung auf 38°C (mittlerer Bildteil) läßt die Stoffwechselrate ansteigen und damit bei gleichbleibendem Angebot die Versorgung noch insuffizienter werden; Mangelercheinungen treten in Form einer weiteren Aktivitätsminderung hervor. Die Kühlung auf 30°C dagegen (unterer Bildteil) senkt den Gewebe-Bedarf und läßt die Versorgung ausreichend werden; normale Minutenrhythmik beginnt sich auszuprägen.

Die Gründe für das spontane Auftreten solcher abnorm langen Perioden sind unbekannt. Vermuten ließe sich evtl. eine Erschwerung der Versorgung innerer Gewebsanteile von Präparaten mit besonders großem Durchmesser.

b) Intrazelluläre Messung

Die intrazelluläre Messung läßt konkretere Aussagen über die verschiedenen elektrischen Membranphänomene an der *Taenia coli* zu. Es zeigt sich, daß ein eigentliches Ruhepotential bei Spontanaktivität unter den genannten normalen Versuchsbedingungen nicht festzulegen ist, sondern allenfalls ein instabiles "basales Membranpotential", das um einen Mittelwert von ca. 50 mV fluktuiert. Relativ hochfrequente (ca. 1/sec), sinusähnliche, als "Generatorpotentiale" bezeichnete Wellen, denen schnelle, spitzenförmige Depolarisationen von 50 - 60 mV ("Spikes") aufsitzen,

werden überlagert von einer trägen minutenrhythmischen Oszillation mit Amplituden bis zu ca. 15 mV. Während der Depolarisationsphase einer derartigen langsamen Welle tritt salvenartige Spike-Feuerung auf, die periodische mechanische Aktivität induziert. Generatorpotentiale und Spikes fehlen dagegen während der nachfolgenden Hyperpolarisation: Das Gewebe erschlafft (Abb. 12).

Angefügt sei hier eine Abbildung, die anhand von intrazellulären Registrierungen die bereits im vorhergehenden Abschnitt geschilderte Frequenzstabilität der Minutenrhythmik gegenüber Dehnungsänderungen deutlich werden läßt (Abb. 13). Wieder geht zunächst (vergl. Abb. 9) die abnorm niederfrequente, durch angedeutete Zwischenkontraktionen bereits weiter untergliederte Periodik (a) nach geringer Dehnung in normale Rhythmik (b) über, die dann bei stufenweiser Belastungssteigerung (c - g) praktisch keine Frequenzänderung erfährt.

c) Frequenz-Mittelwerte aus beiden Versuchsreihen

Eine Häufigkeitsverteilung der mittleren Periodenlängen aus 36 Einzelversuchen (Abb. 14) umreißt als Normalbereich der Minutenrhythmik bei 33 - 36° C ein Feld zwischen ca. 1 - 4 min Dauer. Bei größeren Abständen dürften Ausfälle von Zwischenkontraktionen bei primär höherer Frequenz anzunehmen sein. (Zur Auswertung kamen 24 Versuche der extrazellulären und 12 der intrazellulären Meßreihe. Bei 4 Versuchen mit sehr langer Periodendauer und angedeuteten Zwischenkontraktionen wurden Doppelwerte eingetragen.)

Als mittlere Spike-Frequenz bei 35° C wurde für 30 Versuche (24 aus der extrazellulären, 6 aus der intrazellulären Meßreihe) ein Wert von 66/min (Streuung: $\sigma = \pm 13$) bestimmt. Dazu wurden bei manifester Minutenrhythmik die Phasen ausgewertet, in denen auf dem Plateau einer Kontraktionswelle (also ohne Berücksichtigung der Initial- bzw. Schlußphase)

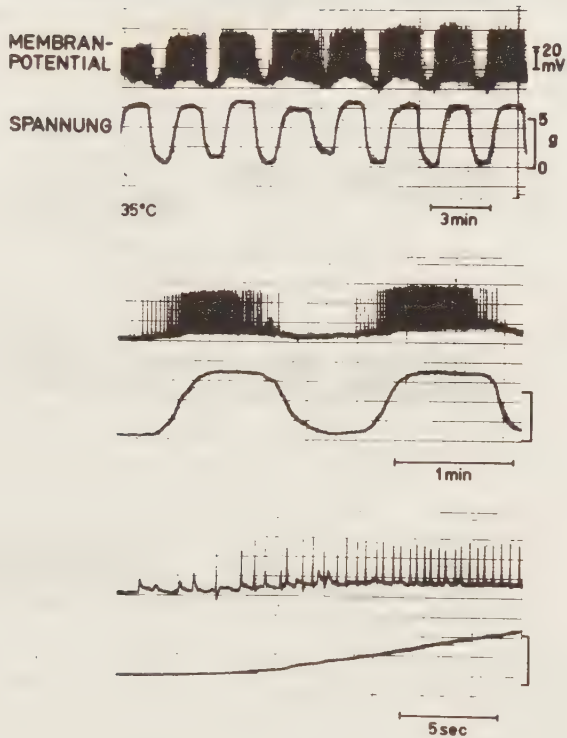


Abb. 12 Spontanverhalten der *Taenia coli* bei intrazellulärer Potentialableitung, 35° C. Registrierung mit 3 verschiedenen Geschwindigkeiten.

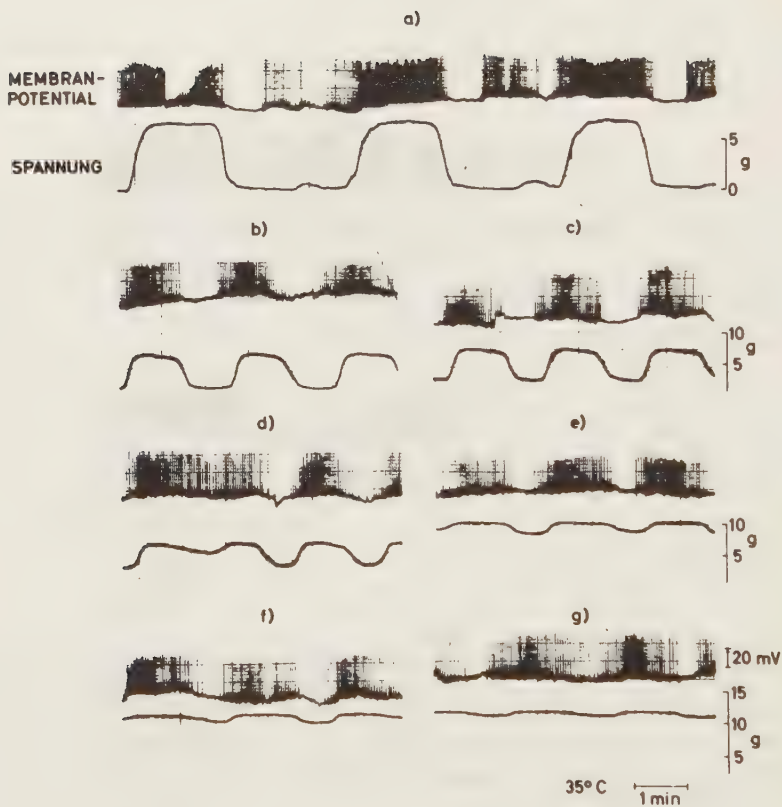


Abb. 13 Dehnungsunabhängigkeit der Frequenz der Minutenrhythmik.

- a) Abnorm weite Kontraktionsabstände (mit angedeuteten Zwischenwellen) bei schwacher Präparat-Vorspannung
 - b) Übergang zu normaler Rhythmik nach geringer Dehnung
 - c-d) Frequenzkonstanz bei stärkeren Dehnungsgraden.
- (Intrazelluläre Potentialableitung)

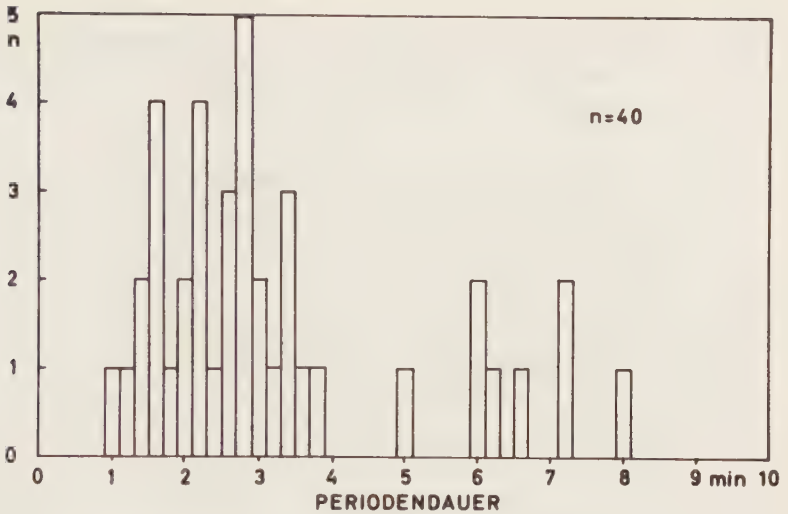


Abb. 14

Häufigkeitsverteilung der mittleren minutenrhythmischen Periodenlängen aus 36 Einzelversuchen.
(Für 4 Versuche wurden Doppelwerte eingetragen.)

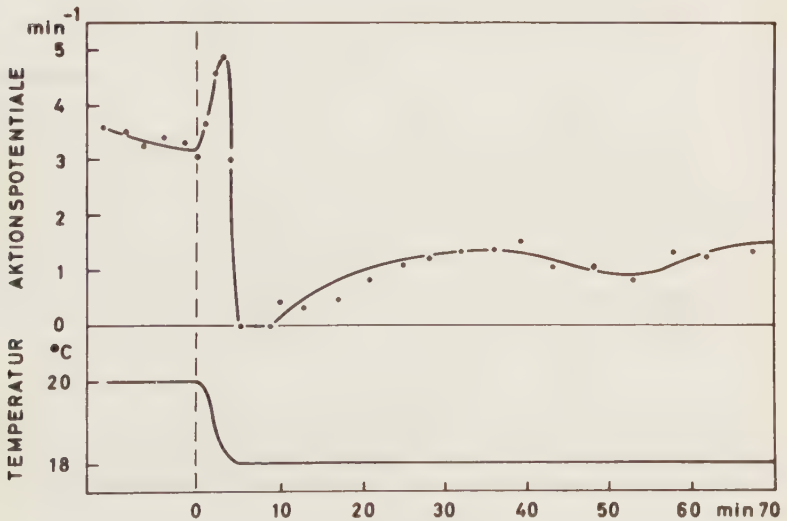


Abb. 15

Spike-Frequenz bei rascher Temperatursenkung von 20 auf 18° C.
Oberer Bildteil: Spike-Frequenz
Unterer Bildteil: Temperaturverlauf
(Versuch Nr. E 22)

eine besonders regelmäßige Spike-Entladung auftrat. Sie weist bei extrazellulärer Ableitung darauf hin, daß das gesamte Präparat gut synchronisiert arbeitet.

2. Einfluß von Temperatursenkungen auf die Spike-Frequenz

Temperatursenkungen bewirken in der Regel Änderungen der Spike-Frequenz mit 3-phasischem Verlauf. Einem 1. kurzzeitigen Stadium gesteigerter Aktivität unmittelbar nach Kühlungsbeginn schließt sich eine 2. Phase der Hemmung an mit Frequenzminderung, evtl. bis zu völligem Stop (bei tieferen Temperaturen). In einem 3. Stadium folgt schließlich eine langsame Adaptation an den veränderten Temperaturwert mit Ausprägung einer neuen, stationären Spike-Frequenz. Das geschilderte Verhalten wird in Abb. 15 deutlich, welche die Meßdaten eines Einzelversuches enthält. Während der beschriebenen initialen Erregungsphase sind - selbst bei extrem schneller Temperatursenkung - im Maximum einer minutenrhythmischen Spontanaktion keine Spike-Frequenzerhöhungen erzielbar. Hier äußert sich die vorübergehende Aktivitätssteigerung zumeist lediglich in einer Verlängerung der ursprünglich spontanen Spike-Salve. Fällt dagegen der Kühlungsbeginn in die Ausklingphase einer Aktivitätswelle oder in das Ruhe-Intervall zwischen zwei derartigen Salven, so kommt es zu einer deutlichen reaktiven Frequenzsteigerung bzw. zur Induzierung einer zusätzlichen Spike-Salve (Abb. 16).

Läßt man die geschilderte initiale Kühlreaktion unberücksichtigt, so zeigt die temperaturbedingte Änderung der stationären Spike-Frequenz exponentiellen Verlauf; d.h., die jeweils nach vollständiger Adaptation (zumeist 15 - 20 min nach einer Temperatursenkung gemessenen) Frequenzwerte liegen, eingetragen in ein halblogarithmisches System, innerhalb eines größeren Temperaturbereiches (ca. 35 - 22° C) auf einer Geraden (Abb. 17, Meßdaten eines Einzelversuches).

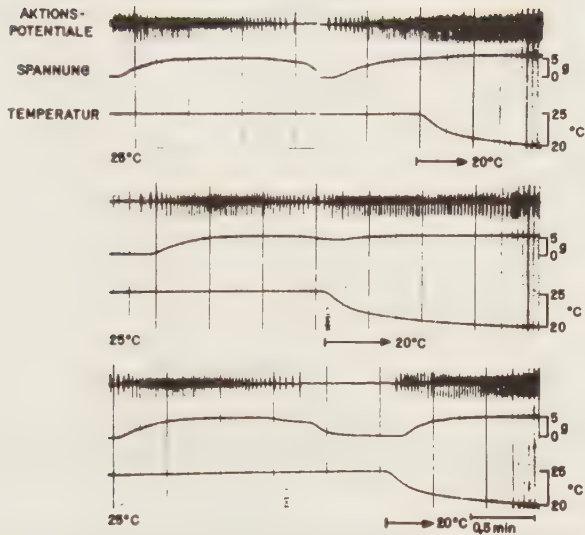


Abb. 16

Initiale Reaktion der Spike-Frequenz auf schnelle Temperatursenkungen (von 25 auf 20° C) in verschiedenen Phasen der spontanen Aktivitätsschwankungen.

Oberer Bildteil: Kühlung im Aktivitätsmaximum.

Mittlerer Bildteil: Kühlung beim Abklingen einer Aktivitätswelle.

Unterer Bildteil: Kühlung in der Ruhephase.

(Ausschnitte aus einer Originalregistrierung, Versuch Nr. K 1)

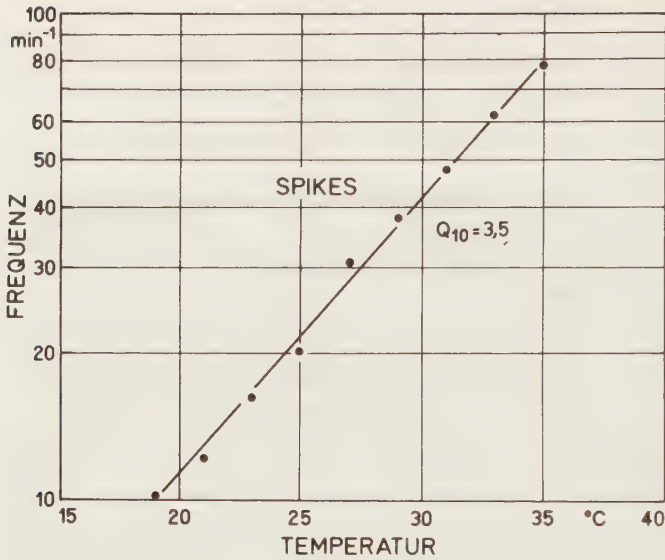


Abb. 17 Spike-Frequenz in Abhängigkeit von der Temperatur zwischen 35 und 19° C. (Versuch Nr. E 2)

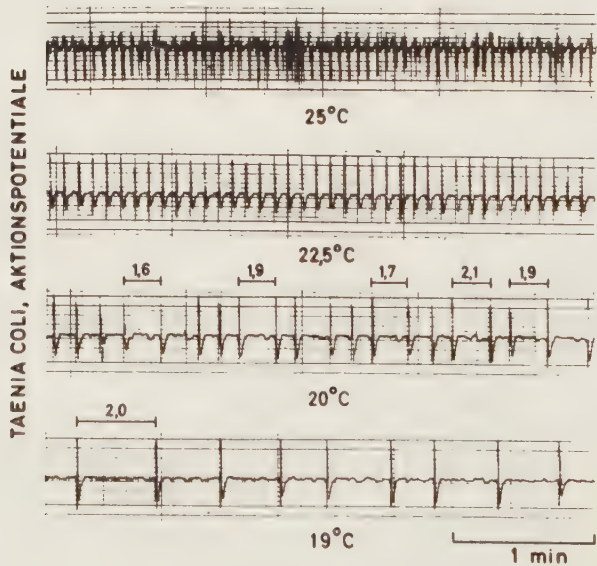


Abb. 18 Kontinuierliche Spike-Aktivität bei 25 und 22,5° C. Bei 20° C Ausfall einzelner Spikes, Perioden-Dopplungen. Die angetragenen Zahlen geben jeweils die Relation eines langen Intervalls zu dem vorhergehenden kürzeren an. (Versuch Nr. E 12)

Für den genannten Bereich wurde anhand von 21 hierfür auswertbaren Untersuchungen ein mittlerer Q_{10} -Wert von 3,39 ($G = \pm 0,35$) bestimmt (Tabelle 1). Zur Berechnung von Q_{10} -Werten ist es allerdings notwendig, sich durch Kühlung in kleinen Raten davon zu überzeugen, daß die Frequenzänderung kontinuierlich erfolgt. Wie Abb. 18 zeigt, gibt es häufig auch sprunghafte, meist in ganzzahligem Verhältnis zueinander stehende Änderungen, die vornehmlich unterhalb von 20°C - u.U. aber auch bereits bei höheren Temperaturen - durch den Ausfall einzelner Spikes bewirkt werden und erhebliche Q_{10} -Wert-Überhöhungen vortäuschen können (vergl. Abb. 22 u. 23). Gelegentlich läßt sich die regelmäßige Spike-Frequenzminderung auch unterhalb von 20°C bis hin zu kritischen Temperaturen verfolgen, bei deren Unterschreitung die Spontanaktivität erlischt. Aber auch hier kommt es kurz vor dem Aktivitäts-Stop stets zu einer diskontinuierlichen letzten Frequenzänderung (vergl. Abb. 19 u. 20).

Anhang: Anmerkungen zum Q_{10} -Wert

Nach PRECHT et al. (1955) ist gewöhnlich zur Charakterisierung der Temperaturabhängigkeit eines biologischen, der Vermutung nach primär auf chemische Abläufe zurückzuführenden Vorganges der Betrag seiner jeweiligen Aktivierungsenergie (μ) besser geeignet als der Q_{10} -Wert, der selbst in gewissem Maße Abhängigkeit von der Temperatur zeigt. Folgende Beziehung macht das deutlich:

$$(1) \quad Q_{10} = \frac{k_{(T+10)}}{k_T} = \frac{e^{-\frac{\mu}{R(T+10)}}}{e^{-\frac{\mu}{RT}}}$$

(k_T bzw. $k_{(T+10)}$) = Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten bei zwei um 10°C differierenden Temperaturen, an deren Stelle im biologischen Experiment entsprechende Leistungsmeßgrößen - in unserem Falle die Spike-Frequenz - verwendet werden.

$$\begin{aligned} R &= \text{Gaskonstante } (1,986 \text{ cal } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ mol}^{-1}) \\ T &= \text{absolute Temperatur }) \end{aligned}$$

Die Aktivierungsenergie (μ) ist proportional dem Neigungswinkel (α) der Verbindungslinie zwischen den logarithmisch als Funktion von $1/T$ abgetragenen Leistungswerten.

$$(2) \quad \mu = 4,574 \text{ tg } \text{ cal/mol}$$

Die numerische Bestimmung kann nach der Gleichung erfolgen:

$$(3) \quad \mu = 4,547 \frac{\log n_1 - \log n_2}{1/T_2 - 1/T_1} \text{ cal/mol}$$

So wurden für die Spike-Frequenz von 24 Versuchen der extrazellulären Meßreihe ein mittlerer μ -Wert von annähernd 25 000 cal/mol bestimmt.

Dennoch hat in der vorliegenden Arbeit die Angabe von Q_{10} -Werten ihre Berechtigung, da (bei konstantem μ) die temperaturbedingte Inkonzanz innerhalb des in Relation zu T sehr schmalen Meßbereiches (ca. $35 - 15^\circ \text{C}$), in dem T in nahezu linearer Beziehung zu $1/T$ steht, kaum ins Gewicht fällt.

3. Einfluß von Temperatursenkungen auf die Minutenrhythmik

Zur Beschreibung der Temperaturabhängigkeit der Minutenrhythmik lassen sich - trotz erheblicher Variabilität in Einzeluntersuchungen - zwei Verlaufsformen einander gegenüberstellen, die wir im folgenden als Reaktionstyp "A" bzw. "B" bezeichnen wollen.

Typ A (Abb. 19 u. 20) zeichnet sich durch auffallende Stabilität der Minutenrhythmik gegenüber Temperaturänderungen aus. Innerhalb des gesamten Meßbereiches (von 35°C bis zum Aktivitäts-Stop bei tiefer Temperatur) bleibt die minutenrhythmische Aktionsgliederung in Spike-Aktivität und Mechanogramm

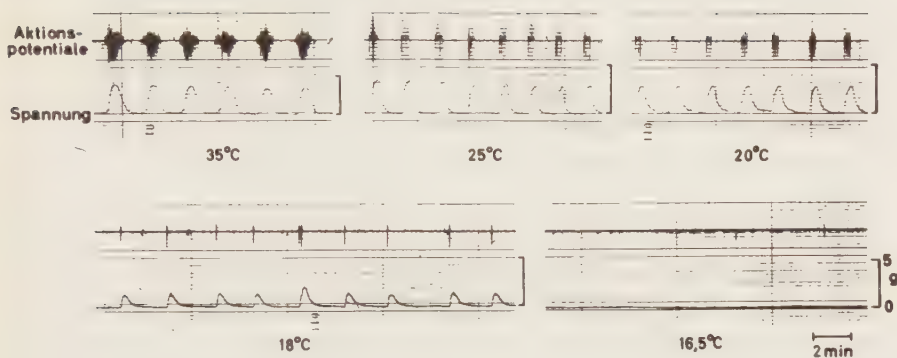


Abb. 19 Frequenzkonstanz der Minutenrhythmik bei Kühlung, Reaktionstyp A.
(Ausschnitte aus einer Originalregistrierung, Versuch Nr. E 9)

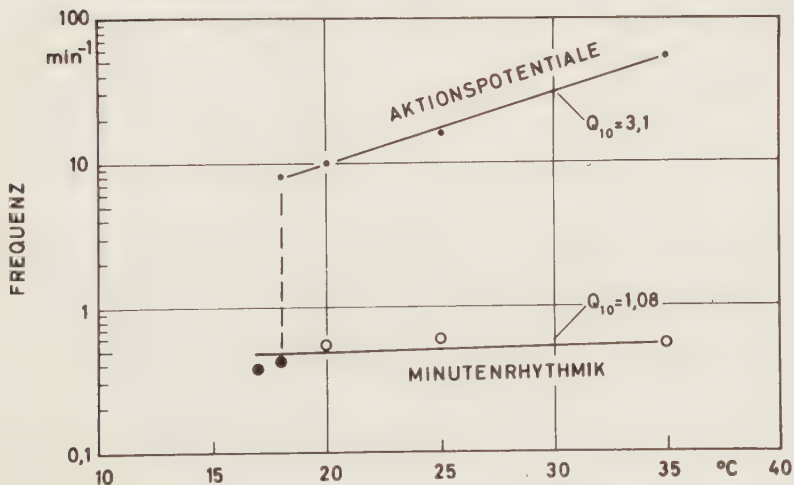


Abb. 20 Frequenzwerte von Spikes und Minutenrhythmik in Abhängigkeit von der Temperatur, Reaktionstyp A. (Versuch Nr. E 9, wie in Abb. 19)

erkennbar. Dabei erweist sich die Periodendauer als besonders stabil: trotz Kühlung behält sie nahezu konstante Werte; in Einzelversuchen angedeutete Verlängerungen erweisen sich als relativ geringfügig (Abb. 21). So wurde anhand von 4 Versuchen, in denen der geschilderte Typ klar hervortrat, ein mittlerer Q_{10} -Wert von 1,22 bestimmt (niedrigster Wert: 1,0; höchster Wert: 1,34).

Wie bereits erwähnt, verringert sich dagegen die deutlich temperaturabhängige Spike-Folgefrequenz zusehends, bis schließlich Spike-Abstand und minutenrhythmische Periodenlänge zusammenfallen, also lediglich ein Solitär-Spike einer Aktivitätswelle zuzurechnen ist (Abb. 19 u. 20). Die in diesem Bereich auftretende Frequenz stellt einen Grenzwert dar: Wir bezeichnen sie als "Stop-Frequenz", da bei weiterer Temperatursenkung das Präparat unvermittelt inaktiv wird. Mit dem konstant bleibenden Frequenz-Wert der Minutenrhythmik ist also zugleich die limitierende Frequenz für die Spike-Aktivität im tiefen Temperaturbereich gegeben. Zu beachten ist allerdings, daß es sich dabei nicht um die eigentliche, kontinuierlich verlangsamte Spike-Rhythmik handelt, sondern um eine Periodik, die aus den im kritischen Temperaturbereich letztlich immer diskontinuierlichen Frequenzänderungen resultiert.

Das Bild kann dadurch verfälscht werden, daß bei gelegentlich unter Normalbedingungen zu registrierenden abnorm langen Perioden (vergl. Abb. 11) nach u.U. nur geringer Temperatursenkung eine erhebliche Zunahme der minutenrhythmischen Frequenz vorgetäuscht wird. Tatsächlich bewirkt Kühlung in einem solchen Falle aber erst das Hervortreten der eigentlichen normalfrequenten, zuvor nicht manifesten oder allenfalls angedeuteten Minutenrhythmik, die dann bei weiterer Temperatursenkung normales Verhalten zeigt.

Der häufiger zu findende Typ B ist gekennzeichnet durch eine unterschiedlich lang anhaltende, aber stets passager

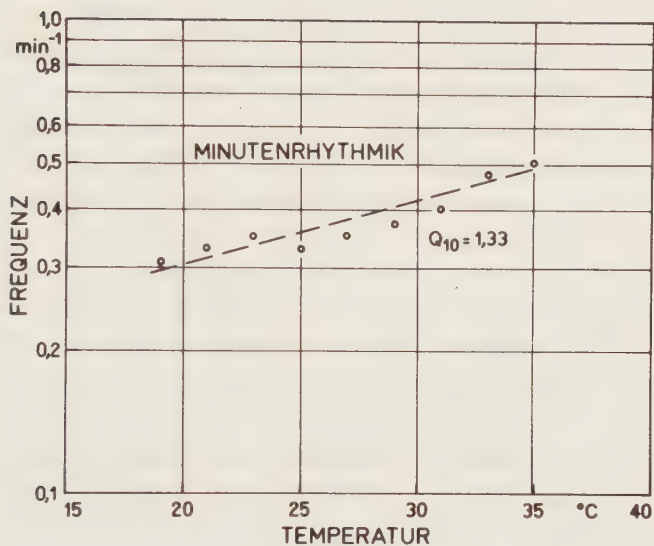


Abb. 21 Frequenz der Minutenrhythmik in Abhängigkeit von der Temperatur zwischen 35 und 19 $^{\circ}$ C, geringe Zunahme der Periodendauer.
(Versuch Nr. E 2)

auftretende Verschmelzung der minutenrhythmischen Wellen zu ungegliederter Daueraktivität unter dem Einfluß der Temperatursenkung. Nach in der Regel gut ausgeprägter Minutenrhythmik bei 35°C tritt zumeist bei ca. $30 - 25^{\circ}\text{C}$ kontinuierliche Aktivität auf, die ein Verfolgen der ursprünglichen Periodik unmöglich macht. Die Spike-Frequenz ändert sich in der beschriebenen Weise (kontinuierliche Abnahme bis ca. 20°C , anschließend sprunghafte Minderung durch Abstandsvervielfachungen), bis bei tiefen Temperaturen wiederum Spike-Abstände auftreten, die den primären minutenrhythmischen Periodenlängen entsprechen. Interessanterweise ist damit zugleich wieder die Stop-Frequenz erreicht; nach weiterer Kühlung stellt das Präparat seine Spontanaktivität ein.

Abb. 22 und 23 machen anhand von Originalkurven-Ausschnitten bzw. dem zugehörigen Frequenz/Temperatur-Diagramm das geschilderte Verhalten deutlich. Statt der Stop-Frequenz wurde in Abb. 22 (unterster Teil) die auf Inaktivität im entsprechend tiefen Temperaturbereich nach geringer Wiedererwärmung folgende erste Spontanaktivität ("Start-Frequenz") dargestellt. Stop- und Start-Frequenz (als Grenzwerte für die Spontanaktivität) sind - wie zu erwarten - identisch.

Auch beim Reaktionstyp B entsprechen sich also Minutenrhythmik und Stop-Frequenz der Spike-Entladung, so daß der Schluß naheliegt, es bestehe kein grundsätzlicher Unterschied zwischen den geschilderten Verläufen, vielmehr bleibe auch im 2. Falle eine temperaturunabhängige minutenrhythmische Grundperiodik erhalten - wenngleich zeitweise latent - und trete schließlich in der Grenz-Frequenz zutage.

Die durch Kühlung induzierte Daueraktivität blieb nicht in jedem Falle bis hinunter zu kritischen Temperaturen bestehen, sondern formte sich gelegentlich bereits vor Erreichen der Grenz-Frequenz wieder zu deutlicher Minutenrhythmik um (Abb. 24). Die nur schwach ausgeprägte Periodik bei 35°C

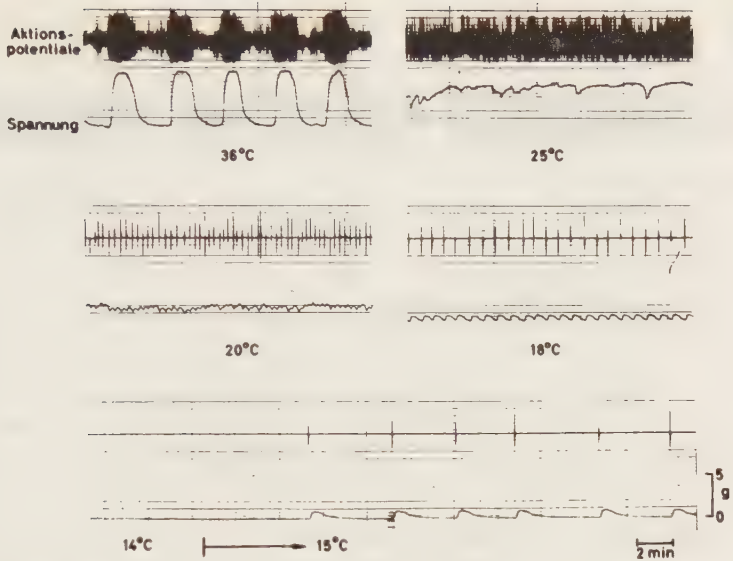


Abb. 22 Vorübergehende Verschmelzung der Minutenrhythmik zu kontinuierlicher Aktivität nach Kühlung und erneutes Auftreten bei 14°C, Reaktionstyp B. (Versuch Nr. E 10)

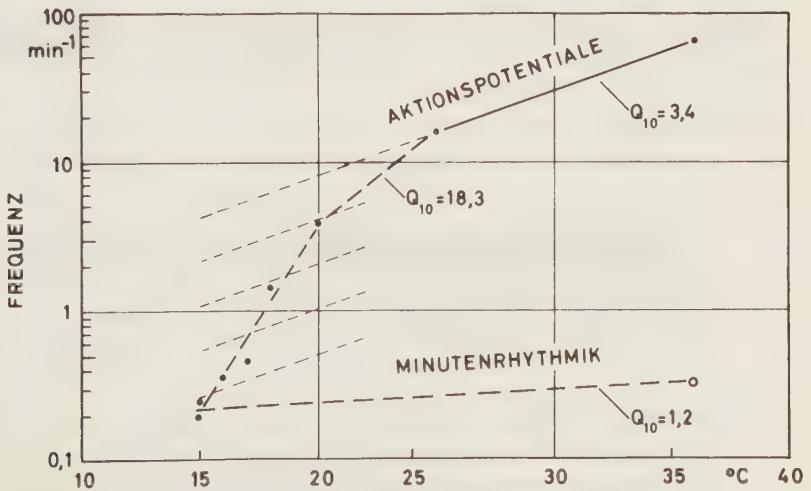


Abb. 23 Frequenzwerte von Spikes und Minutenrhythmik in Abhängigkeit von der Temperatur, Reaktionstyp B. (Versuch Nr. E 10, wie in Abb. 22)

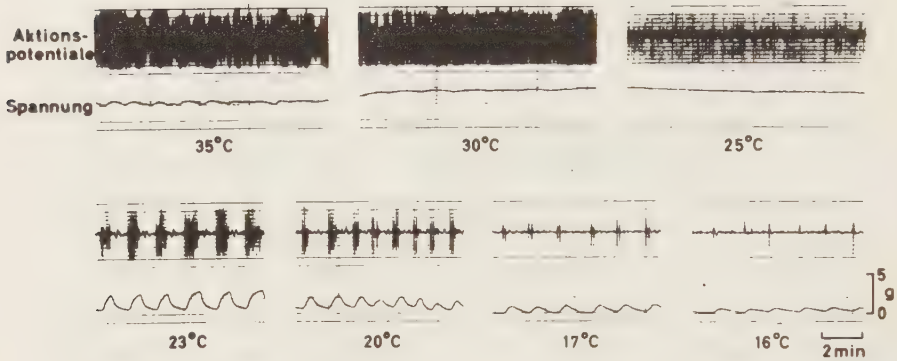


Abb. 24 Schwach ausgeprägte Periodik bei 35° C, Daueraktivität nach Temperatursenkung, Hervortreten von Minutenrhythmik nach weiterer Kühlung.
(Versuch Nr. E 19)

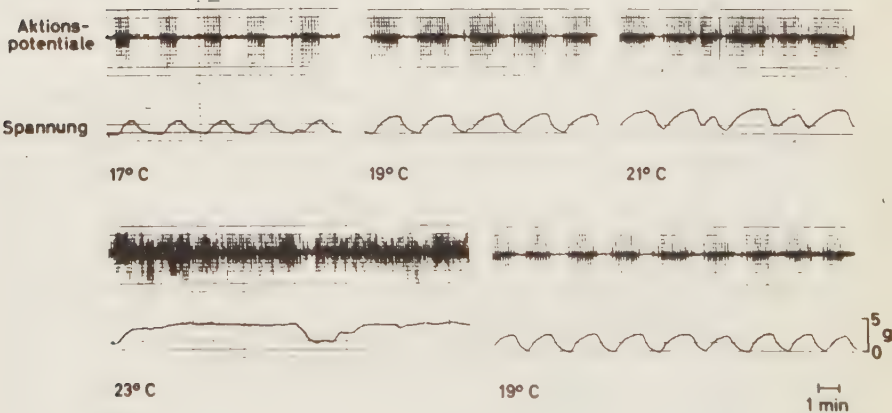


Abb. 25 Verschmelzung der Minutenrhythmik zu Daueraktivität bei Erwärmung von 17 auf 23° C. Bei Temperatursenkung erneutes Auftreten von Minutenrhythmik. (Versuch Nr. E 17)

und das bei tieferen Temperaturen dem Reaktionstyp A sehr nahestehende Verhalten von Spikes und Minutenrhythmik (die Spike-Frequenz mindert sich völlig kontinuierlich bis zum Grenzwert bei gleichzeitiger Konstanz der minutenrhythmischen Periodendauer) läßt diesen Versuch der am Schluß dieses Abschnitts erwähnten Gruppe der Übergangsformen zwischen den beiden typischen Verläufen zuordnen.

Daß das Auftreten von Daueraktivität nicht als eine unspezifische Antwort des Gewebes auf Temperatursenkungen im Sinne einer vorübergehenden Aktivitätssteigerung während des Stadiums 1 der geschilderten 3-phasischen Kühlreaktion, sondern als eine stationäre, temperaturgebundene Sonderform der Spontanität anzusehen ist, wird aus Abb. 25 deutlich: Auch bei Erwärmung ($17 - 23^{\circ} \text{C}$) kann Minutenrhythmik in Daueraktivität übergehen, die sich dann bei anschließender Temperatursenkung aufs neue periodisch aufgliedert.

Eine der oben erwähnten (nach Wiedererwärmung sichtbaren) Start-Frequenz adäquate Periodik ist häufig auch ohne Temperaturerhöhung nach längerer Inaktivität im kritischen Temperaturbereich zu sehen. Hier kann es, entsprechend der beschriebenen 3-phasischen Reaktion auf Temperaturänderungen, nach einer unterschiedlich langen Zeit der Adaptation (in Einzelversuchen bis zu mehreren Stunden) spontan zu erneutem Auftreten von Aktivität kommen, und zwar wiederum im Rhythmus der zuletzt registrierten Grenz-Frequenz (Abb. 26). Auch hierin dürfte ein Hinweis auf die ausgeprägte Stabilität der minutenrhythmischen Grundperiodik zu sehen sein.

Abb. 27 zeigt noch einmal anhand von Gegenüberstellungen (Originalausschnitte aus 4 Einzelregistrierungen) die Übereinstimmung von Minutenrhythmik und Grenz-Frequenz. Bei abnorm langen Periodendauern der manifesten Minutenrhythmik, die wahrscheinlich als Abstandsvergrößerung durch

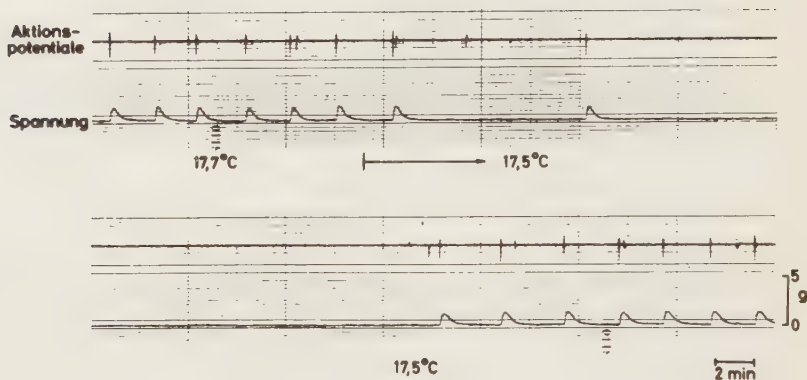


Abb. 26 Erlöschen der Spontanität nach Kühlung von 17,7 auf 17,5° C. Erneutes Auftreten von Spikes nach einer inaktiven Phase von ca. 25 min Dauer. Stop- und Start-Frequenz entsprechen sich. (Versuch Nr. E 9)

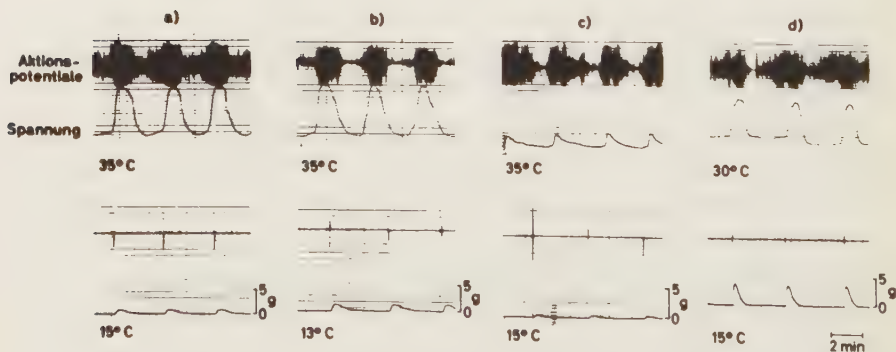


Abb. 27 Gegenüberstellung von Minutenrhythmik bei Normaltemperatur und Grenz-Frequenz. (Ausschnitte aus 4 Originalregistrierungen, Versuch Nr. E 12, E 15, E 18, E 13.)

Ausfälle von Zwischenkontraktionen deutbar sind, kann in der Grenz-Frequenz der eigentliche Rhythmus zum Vorschein kommen. (Abb. 28)

Kompliziert wird u.U. das Bild durch das erwähnte Phänomen der ganzzahligen Perioden-Vervielfachungen, das bereits unter Normalbedingungen bei längerer Registrierdauer die minutenrhythmische Frequenz nicht absolut starr fixiert erscheinen ließ, vielmehr spontane sprunghafte Wechsel offenbarte, die bei graphischer Auswertung ein typisches Bandenspektrum ergaben (vergl. Abb. 8). Entsprechend unserer Vorstellung von einer Übereinstimmung von Minutenrhythmik und Grenz-Frequenz ist das gelegentliche Hervortreten desselben Prinzips auch im kritischen Temperaturbereich (besonders bei ausgedehnteren Messungen) wenig überraschend (Abb. 29).

Die Variabilität der Einzelbefunde innerhalb der Gesamt-experimentalreihe ist erheblich. Nicht immer lassen sich die Meßwerte klar einem der beschriebenen Reaktionstypen zuordnen; vielfach finden sich Übergangsformen, die die Verwandtschaft zwischen den beiden herausgestellten Verläufen betonen. Abb. 30 zeigt in einem Summendiagramm eine Zusammenstellung sämtlicher Versuche (24) der extrazellulären Experimentalreihe. Voll ausgeprägt wurde Typ A 4-mal, Typ B 10-mal beobachtet. Der Rest verteilt sich auf die erwähnten Mischformen. Trotz der ersichtlichen Streuungen dürften in dieser Darstellung die geschilderten Gesetzmäßigkeiten deutlich werden.

Die Deutung der Grenz-Frequenz als erneute Manifestation der ursprünglichen Minutenrhythmik nach vorübergehender Kühlungsbedingter Unterdrückung (Typ B) gestattet es, aus der Relation der minutenrhythmischen Frequenz bei Normaltemperatur zu der Grenz-Frequenz im kritischen Bereich τ_{10} -Werte zu bestimmen. Unter Einbeziehung der beschriebenen 4 Versuche des Reaktionstyps A konnten Berechnungen für

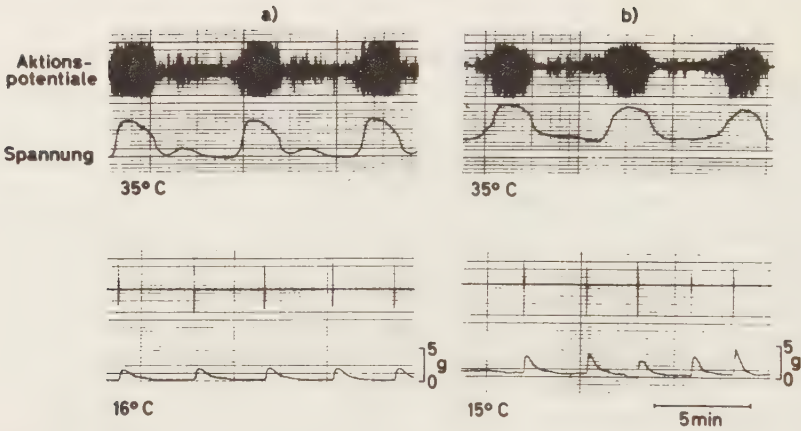


Abb. 28 Abnorm lange Periodendauer bei 35° C mit angedeuteter normaler Minutenrhythmik (bes. bei a), die in der Grenzfrequenz (bei 16 bzw. 15° C) deutlich hervortritt. (2 Versuche, Nr. E 21 u. E 16)

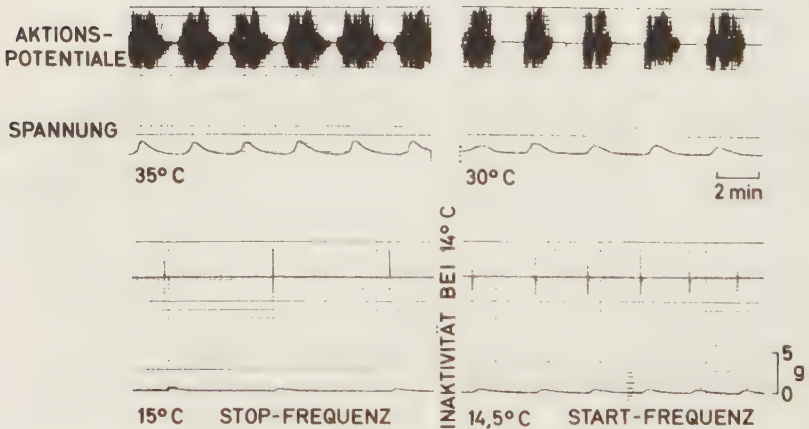


Abb. 29 Ganzzahlige Perioden-Vervielfachungen im kritischen Temperaturbereich (Stop-Frequenz). Die Start-Frequenz (induziert durch Wiedererwärmung auf 14,5° C nach 2,5-stündiger Inaktivität bei 14° C) entspricht der normalen Minutenrhythmik. (Versuch Nr. E 18)

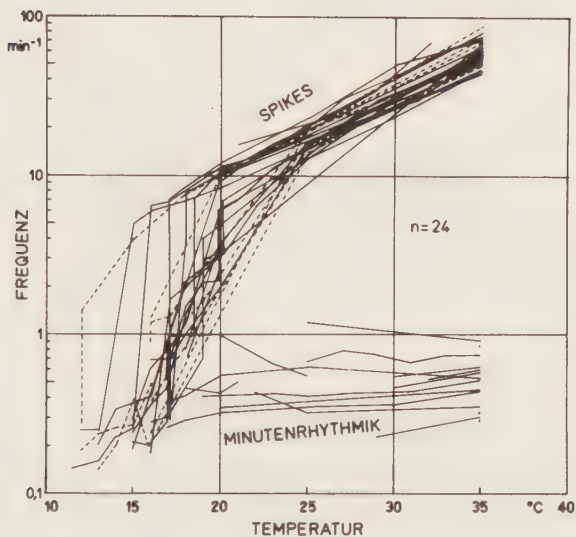


Abb. 30 Frequenzwerte von Spikes und Minutenrhythmik in Abhängigkeit von der Temperatur. Zusammenstellung sämtlicher Versuche (24) der extrazellulären Experimentalreihe. (Die unterbrochenen Linien verbinden Spike-Frequenzwerte von Versuchen, deren minutenrhythmische Frequenzen wegen abnorm langer Periodendauern nicht in das Diagramm aufgenommen wurden.)

insgesamt 15 Einzeluntersuchungen durchgeführt werden. (Vom Typ B wurden nur Meßwerte von solchen Versuchen verwendet, die normalfrequente Minutenrhythmik im hohen und klaren Aktivitäts-Stop im tiefen Temperaturbereich aufwiesen.) So wurde ein mittlerer Q_{10} -Wert von 1,05 ($S = \pm 0,17$) bestimmt; die Einzelwerte sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Ein exakter Wert für die kritische Temperatur, bei deren Unterschreitung die Spontanaktivität erlischt, läßt sich nicht angeben. Er liegt zumeist zwischen 14 und 17° C, zeigt aber starke Abhängigkeit von der jeweiligen Adaptation des Präparates und kann daher nach längerem Verbleiben im tiefen Temperaturbereich erheblich absinken. So wurde in einem Extremfall nach stundenlangem Verharren bei niedrigen Temperaturen Spontanaktivität noch bei 9,8° C beobachtet.

4. Einfluß von Temperatursenkungen auf die minutenrhythmischen Fluktuationen des "basalen Membranpotentials"

Im Abschnitt über das Normalverhalten der *Taenia coli* wurde auf langsame minutenrhythmische Membranpotential-Oszillationen hingewiesen, die bei intrazellulärer Ableitung registrierbar sind. Der Einfluß von Temperatursenkungen auf diese trägen Potential-Schwankungen, die man evtl. als eigentlichen, die Periodik in Spike-Aktivität und Tonus steuernden minutenrhythmischen Primärprozeß zu deuten versucht ist, sollte in einer speziellen Versuchsreihe (15 Experimente) mittels Mikroelektroden-Messungen näher untersucht werden.

Abb. 31 zeigt zunächst gut ausgeprägte Minutenrhythmik bei 35° C, die nach Kühlung in der Art des geschilderten Reaktionstyps B in Daueraktivität übergeht. Die anfangs deutlichen langsamen Membranpotential-Fluktuationen (um 10 mV) werden mit dem Auftreten der kontinuierlichen

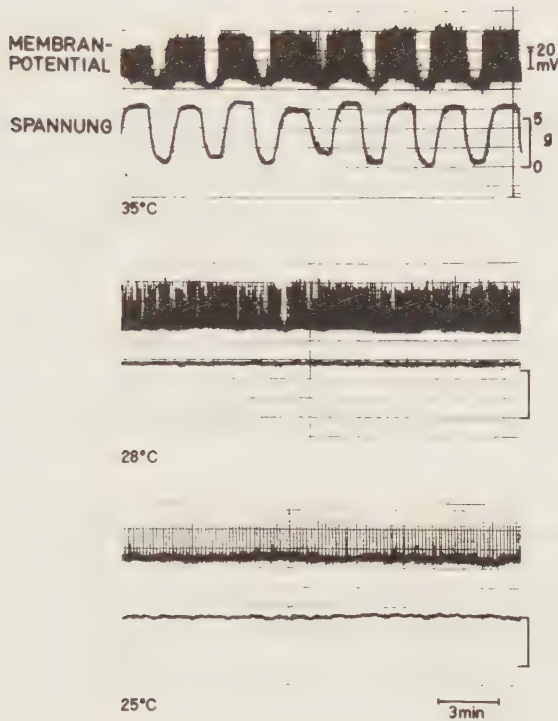


Abb. 31

Schwinden der minutenrhythmischen Membranpotential-Fluktuationen nach Verschmelzung der periodischen zu kontinuierlicher Spike-Entladung bei Kühlung, Reaktionstyp B.
(Intrazelluläre Messung, Ausschnitte aus einer Originalregistrierung, Versuch Nr. I 8)

Spike-Feuerung schwächer und schwinden nahezu völlig bei weiterer Temperatursenkung.

Abb. 32 läßt Minutenrhythmik im tieferen Temperaturbereich (20°C) erkennen, die sich sowohl in der Spike-Aktivität als auch im Mechanogramm manifestiert. Minutenrhythmische Membranpotential-Fluktuationen sind dagegen nicht nachzuweisen. Das gleiche gilt für den kritischen Temperaturbereich, in dem sich wiederum Spike-Frequenz und Minutenrhythmik entsprechen: Die Solitär-Spikes scheinen aus einer annähernd bewegungslosen Potential-Linie heraus zu erstehen. Geringe weitere Kühlung führt zum Erlöschen der Spontantätigkeit bei völliger Stabilität des Membranpotentials. Anschließende Wiedererwärmung induziert den ersten Spike ohne erkennbare vorausgehende Potential-Änderung.

Abb. 33 soll das geschilderte Verhalten noch einmal anhand von Registrierbeispielen aus dem vollständigen Meßbereich eines Einzelversuches (35°C bis zu Inaktivität bei 15°C) aufzeigen. Sie darf als stellvertretend für die Gesamtversuchsreihe gelten: Bei keinem der 15 Einzelversuche waren im tiefen Temperaturbereich minutenrhythmische Membranpotential-Oszillationen nachzuweisen.

Im Gegensatz zur Minutenrhythmik erweisen sich also nach unseren Untersuchungen die bei 35°C in Koordination mit ihr verlaufenden langsamen Potential-Schwankungen als sehr temperaturempfindlich. Dieser Befund läßt in ihnen eher ein bloßes Begleitphänomen der minutenrhythmischen Spontantätigkeit bei Normaltemperatur als etwa eine notwendige Voraussetzung dafür sehen.

Einschränkend soll gesagt werden, daß mit unseren Ergebnissen nicht der absolute Beweis für eine obligate Blockierung jeglicher minutenrhythmischer Membranpotential-Fluktuationen erbracht wurde. So ist z.B. die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß im tiefen Temperaturbereich derartige Potentialschwankungen ausgesprochen lokal begrenzt auftreten und der möglicherweise im überstehenden Taenien-Ende befindliche

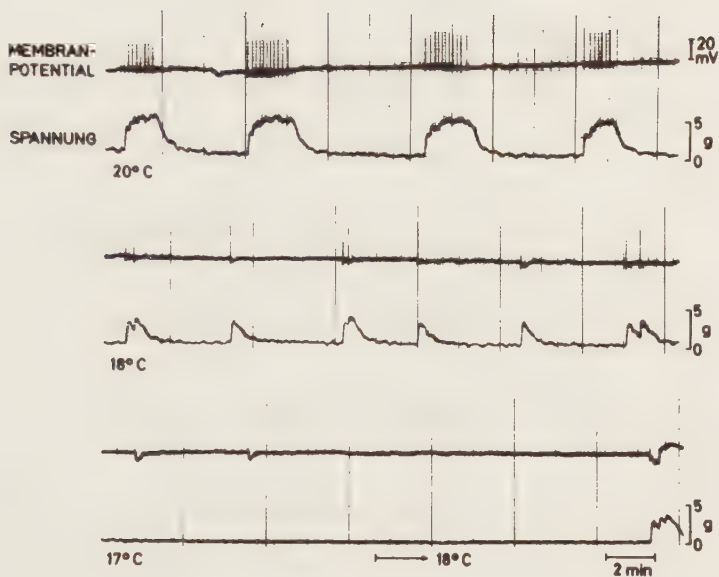


Abb. 32 Minutenrhythmik bei 20 bzw. 18° C ohne langsame Membranpotential-Fluktuationen. Völlig stabiles Membranpotential nach Erlöschen der Spontanaktivität bei 17° C. Nach Wiedererwärmung auf 18° C erneute Spike-Entladung.

(Die anschließende Dislokation der Elektroden-
spitze bedingt die nachfolgenden Artefakte in der
Potentialregistrierung. Die im Mechanogramm sicht-
baren kleineren Wellen stellen ebenfalls - auf
Transducer-Störungen zurückzuführende - Artefakte
dar.)

(Intrazelluläre Messung, Ausschnitte aus einer
Originalregistrierung, Versuch Nr. I 4)

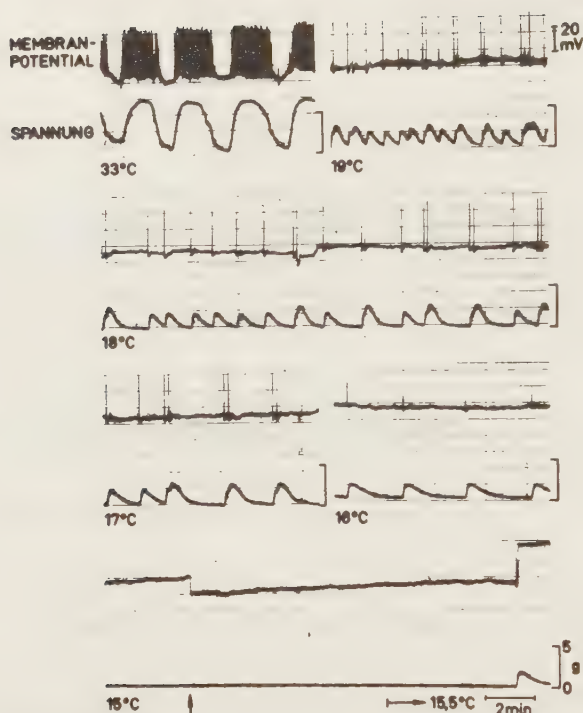


Abb. 33

Anfänglich gut ausgeprägte langsame Membranpotential-Fluktuationen bei 33° C, die nach Kühlung (17 und 16° C) trotz deutlicher Minutenrhythmik in Spike-Entladung und Mechanogramm nicht mehr zu registrieren waren. Stabiles Membranpotential im inaktiven Bereich (15° C), das auch bei geringer Wiedererwärmung (15,5° C) vor dem erneuten Einsetzen von Spontanaktivität bestehen blieb. Die durch den 1. Spike induzierte Kontraktion bewirkte eine Elektrodenverlagerung und damit den nachfolgenden Artefakt in der Potentialregistrierung. (Der senkrechte Pfeil am Unterrand des letzten Kurvenausschnittes markiert eine Nullagen-Verstellung der Potentialschreibung zur Korrektur einer gerätebedingten leichten Drift.) (Intrazelluläre Messung, Ausschnitte aus einer Originalregistrierung, Versuch Nr. I 2)

Quellpunkt der Erregung trotz systematischer Untersuchungen, die sich aber notwendigerweise auf den am Plättchen fixierten Präparat-Teil (vergl. Abb. 2) beschränkten, nicht erfaßt wurde.

V. DISKUSSION

1. Vergleich der Ergebnisse mit den Angaben anderer Autoren

Die für Normalbedingungen von uns mit 66/min angegebene mittlere Spike-Frequenz deckt sich weitgehend mit den von BÜLBRING u. KURIYAMA (1963) für die Spontanfrequenz (ca. 55 - 60/min) und den von GOLENHOFEN (1965) bzw. später noch genauer von HANNAPPEL u. GOLENHOFEN (1969) mittels sinusförmiger Dehnung für die "1. Resonanzfrequenz" der *Taenia coli* bestimmten Werten (35 - 55/min bzw. 61,6/min). Der geringe Mehrbetrag unseres Wertes mag daraus resultieren, daß die zuerst genannten Autoren Frequenzbestimmungen unter Bedingungen vornahmen, die zumeist zum Auftreten von Daueraktivität statt minutenrhythmischer Periodik führten. Während kontinuierlicher Spike-Aktivität finden sich, über einen längeren Zeitraum gemittelt, geringfügig niedrigere Frequenzwerte als auf dem Plateau einer Kontraktion im Verlauf spontaner Periodik, für die wir unsere Frequenzanalysen durchführten. Ebenso dürfte die erwähnte "1. Resonanzfrequenz", für die GOLENHOFEN (1965) Dehnungsunabhängigkeit feststellte, eher der Spike-Frequenz eines kontinuierlich tätigen Präparates entsprechen, während sich in unseren Untersuchungen mit periodischer Aktivität die sehr dehnungsempfindliche spontane Spike-Entladung und die induzierten Spannungsänderungen gegenseitig aufgeschaukelt und so zur Bestimmung von leicht erhöhten Frequenzwerten geführt haben mögen.

Detaillierte Angaben zur Frequenz der minutenrhythmik der *Taenia coli* sind vergleichsweise spärlich, da zumeist (wie oben erwähnt) unter Bedingungen gearbeitet wurde, die - beabsichtigt oder unbeabsichtigt - lediglich kontinuierliche Spike-Aktivität beobachten ließen: z.B. durch die Verwendung extrem kurzer, stark gespannter Taenien-Stücke zur Ausschaltung störender, spontaner Gewebsverschiebungen bei intrazellulären Messungen (vergl. BÜLBRING 1957 b,

BÜLBRING u. KURIYAMA 1963), oder bedingt durch methodische Mängel, beispielsweise Temperatur-Inhomogenitäten, Gewebsirritation durch spezielle Präparation (Verwendung sehr dünner Teilstücke), Versorgungsstörungen etc., wie sie bei den vielfach durchgeführten Messungen mittels Saccharose-Trennwand denkbar sind (z.B. BÜLBRING et al. 1958).

Unsere Werte für die minutenrhythmischen Periodenlängen (1 - 4 min) stimmen nahezu überein mit den von GOLENHOFEN (1964 u. 1966) sowohl für die "2. Resonanzfrequenz" (0,5 - 3 min) als auch für die spontane Minutenrhythmik (1 - 3 min) angegebenen Beträgen.

Zur Temperaturabhängigkeit der Spike-Frequenz finden sich Angaben bei BÜLBRING u. KURIYAMA (1963): Anhand von 5 Untersuchungen wurde ein Q_{10} -Wert von 6,4 für den Temperaturbereich zwischen 36 und 22° C bestimmt. Die deutliche Differenz gegenüber unserem Wert (3,39) läßt sich wohl nur so erklären, daß u.U. bereits bei Kühlung auf 22° C auftretende Frequenzsprünge nach bis dahin kontinuierlicher Frequenzminderung nicht beachtet und daher zu hohe Temperaturkoeffizienten ermittelt wurden. (Erwähnt wird z.B. die Blockierung einzelner Spikes bei unverändertem Auftreten von "slow-waves" bei 25 - 22° C.) Zu vermuten wäre auch eine Wert-Verfälschung auf Grund unzureichend langer Messungen jeweils nach einer Temperatursenkung, die zur Registrierung der zunächst noch unadaptierten und damit erheblich langsameren Spike-Aktivität anstelle der sich später ausprägenden stationären Frequenz geführt haben könnten. Für diese Annahme sprechen sowohl einzelne Frequenzangaben (z.B. 20/min bei 32° C; zum Vergleich: Mittelwert aus unseren Untersuchungen 45/min) als auch die Erwähnung von 20° C als Wert für die kritische, weitere Spontanaktivität inhibierende Temperatur. (Bei 20° C beobachteten wir allenfalls einen kurzzeitigen, reaktiven Aktivitäts-Stop vor nachfolgender Adaptation, aber kaum völliges Erlöschen der Spontanaktivität. Während ausgedehnter Messungen fand sich Aktivität noch unterhalb von 10° C.) Im Streubereich des von uns

ermittelten Temperatur-Koeffizienten liegen von GOLENHOFEN (1964) für 2 Versuche bestimmte Q_{10} -Werte: für die spontane Spike-Aktivität 2,5 bzw. 4,3; für die 1. Resonanzfrequenz 2,0 bzw. 3,3.

Hinsichtlich der Wirkung von Temperaturänderungen auf die Minutenrhythmik konnten Angaben anderer Autoren mangels entsprechender spezieller Untersuchungen nicht zum Vergleich herangezogen werden.

Erwähnenswert in diesem Zusammenhang sind allerdings Nebenfunde von MAGNUS (1904), der an isolierten Präparaten vom Katzen-Dünndarm nach Temperatursenkung deutliche Frequenzminderung der relativ schnellen Pendelbewegungen (5 - 7 sec Dauer unter Normaltemperatur) mit einem Q_{10} -Wert von 3 feststellte - bei gleichzeitigem Schwinden der "langsamen Tonusschwankungen" im Minutenbereich. Zum Sistieren der Pendelbewegungen kam es bei ca. 15° C nach einem letzten Auftreten unter einer Grenz-Periodenlänge von ca. 40 sec Dauer: ein Verlauf, der sehr an den von uns an Taenia-coli-Präparaten beobachteten Reaktionstyp B erinnert.

Kurze Hinweise auf eine Temperaturbeeinflussung der Minutenrhythmik der T. coli finden sich bei BÜLBRING (1961: Erwähnung von Periodenverschmelzungen und Übergang zu kontinuierlicher Aktivität bei 30° C) und GOLENHOFEN (1965: Hinweis auf nur seltenes Auftreten von Minutenrhythmik unterhalb von 30° C). Sie deuten ebenfalls auf ein Verhalten in der Art des geschilderten Reaktionstyps B hin.

Andeutungen über die Reaktion der minutenrhythmischen Membranpotential-Fluktuationen auf Temperatursenkung von BÜLBRING (1961: Schwinden der langsamen Potential-Schwankungen nach Kühlung auf 30° C; 1963 maximales und stabilstes Membranpotential bei $32 - 29^{\circ}$ C) stehen in Einklang mit unseren Ergebnissen.

2. Zum Mechanismus der Minutenrhythmik

Im Gegensatz zur Spike-Aktivität, die entsprechend der für die Reaktionsgeschwindigkeit chemischer Abläufe gültigen RGT-Regel (VAN T'HOFF 1909) bei Temperatursenkung um 10°C deutliche, offenbar stoffwechselbedingte Frequenzminderung um das 2- bis 4-fache erfährt und damit gleiches Verhalten wie die meisten übrigen biologischen Rhythmen zeigt (frühe Untersuchungen z.B. von KANITZ 1907: Herzschlag, pulsierende Vakuolen), zeichnet sich die Minutenrhythmik der *Taenia coli* durch ausgeprägte Stabilität gegenüber Temperaturänderungen aus. Sie erweist sich damit als ein fraglos komplexeres Geschehen als z.B. die relativ einfach erscheinende, angenähert minutenrhythmische Periodik mit normalem Temperaturkoeffizienten, die von HESS et al. (1966) in Form glykolytischer Oszillationen in zellfreien Hefe-Extrakten (*S. carlsbergensis*) oder auch in rekonstruierten biochemischen Glykolyse-Systemen gesehen wurde und die sich zunächst als mögliches Modell für den Grundprozeß der glattmuskulären Rhythmik anbot.

Nach SOLLBERGER (1965) kommen zur Erklärung der Temperaturresistenz von rhythmischen biologischen Prozessen (wie sie z.B. von der Tagesrhythmik her bekannt ist) verschiedene mögliche Mechanismen in Frage:

1. Physikalische Prozesse, z.B. Diffusionsvorgänge mit niedrigem Q_{10} -Wert (1,1 - 1,4 nach PRECHT et al. 1955), haben als langsamste Teilreaktion bestimmenden Einfluß auf den Gesamtablauf (sog. "master-reaktion").
2. Molekulare Rhythmen (in Form intramolekularer Energie-Oszillationen) wirken als Zeitgeber.
3. Verschiedene gegenläufige Prozesse mit jeweils normalen Temperaturkoeffizienten sind miteinander gekoppelt. Bei unterschiedlichen Q_{10} -Werten kann sogar negative Temperaturabhängigkeit resultieren (Gesamt- Q_{10} -Wert unter 1), z.B. bei der sog. "Netto-Assimilation" von

Pflanzen (PRECHT et al. 1955), i.e. die Differenz zwischen O_2 -Bildung (niedriger Q_{10} -Wert) und O_2 -Verbrauch (höherer Q_{10} -Wert).

Im Gegensatz zu der offenbar in viel stärkerem Maße von direkt an der Zellmembran ablaufenden Reaktionen abhängigen Spike-Aktivität erscheint der minutenrhythmische Grundprozeß eher als komplexe Aktion der Gesamtzelle mit besonders enger Bindung an deren Stoffwechsel (GOLENIHOFEN 1967). Diese Tatsache ließe eigentlich eine deutliche Temperaturabhängigkeit erwarten und dürfte der 3. der geschilderten Theorien noch am ehesten den Vorzug geben. Ein schlüssiger Beweis für die Gültigkeit einer bestimmten der erwähnten Möglichkeiten allerdings ist derzeit nicht zu erbringen, ebenso lassen sich über die Natur der eventuell wirksamen Teilprozesse bisher noch keine Aussagen machen.

Der Sinn einer solchen mittels u.U. aufwendiger Hilfsmechanismen erzielten Frequenzstabilität ist zumindest für homoiotherme Lebewesen zunächst schwer einzusehen. Vielleicht dürfte hier ein ursprünglich speziell für wechselwarme Organismen ausgebildetes, im Laufe der späteren Phylogenese weitgehend funktionslos gewordenes - also lediglich entwicklungsgeschichtlich zu verstehendes - Prinzip zum Ausdruck kommen, dessen einstmalige Bedeutung evtl. aus der Einordnung der Minutenrhythmik in den Gesamtkomplex biologischer Rhythmen erkennbar wird (vgl. nächsten Abschnitt).

Für die Existenz eines weitgehend temperaturunabhängigen minutenrhythmischen Grundprozesses sprechen alle unsere Untersuchungen. Auch die bei einem großen Teil der Experimente passager aufgetretene Verschmelzung der Minutenrhythmik zu kontinuierlicher Aktivität im mittleren Temperaturbereich (Reaktionstyp B) ist nach unseren Ergebnissen kaum als ein Zeichen für eine in solchen Fällen verminderte Resistenz gegenüber Temperaturänderungen zu werten; vielmehr dürfte sie auf vorübergehende temperaturbedingte Desynchronisation innerhalb des Gesamtpräparates hinweisen, wie sie

gelegentlich - z.B. in Form von Dissoziationen von Spike-Aktivität und mechanischer Spannungsentwicklung - direkt aus den Originalregistrierungen ersichtlich wird. Unkoordinierte Tätigkeit einzelner aktiver Zentren kann insgesamt tetanische Daueranspannung resultieren lassen, die ihrerseits wieder nivellierend auf die zunächst noch periodisch untergliederte Spike-Frequenz zurückwirkt und schließlich zu kontinuierlicher elektrischer Aktivität zu führen vermag. Bei weiterer Temperatursenkung zeigt der Synchronisationsgrad wieder steigende Tendenz und läßt im tiefen Bereich die Minutenrhythmik erneut hervortreten.

Die zunächst bedeutungsvoll erscheinenden langsamen Membranpotential-Fluktuationen, von denen zu vermuten war, daß sie als unmittelbare Äußerung des eigentlichen minutenrhythmischen Grundprozesses durch wechselnde Membran-De- bzw. Hyperpolarisationen die Periodik in der Spike-Entladung induzierten, erwiesen sich in unseren Untersuchungen als sekundäre Begleiterscheinung (Einschränkungen s. Kapitel IV/4). In der salvenartigen Spike-Aktivität ist somit u.U. das einzige registrierbare elektrische Membranphänomen als Ausdruck des minutenrhythmischen Primärgeschehens gegeben.

3. Versuch einer Eingliederung der Minutenrhythmik in den Gesamtverband biologischer Rhythmen

Das Spektrum biologischer Rhythmen - angefangen bei Periodenlängen im Bereich von $1/1000$ sec bis hin zu solchen von Jahresdauer - zeigt kontinuierliche Änderung seiner Qualitäten mit abnehmender Frequenz. Der rhythmische Prozeß, zunächst spezifische Funktionsform einer Gewebsart, zeichnet sich mit zunehmender Periodendauer durch immer ausgeprägtere Komplexität aus, bis er in den Langzeitrhythmen schließlich den Gesamtorganismus bestimmt (HILDEBRANDT 1958). Gleichzeitig ändert sich die Form des periodischen Vorganges.

Zunächst in seinem Ablauf eher zu der Konfiguration einer "Kippschwingung" tendierend, bekommt er mehr und mehr den Charakter einer Oszillation, einer sog. "Pendelschwingung", mit allen ihren Charakteristika (WEVER 1962): sinusförmiger Verlauf, ausgeprägte Frequenzstabilität - also geringe Modulationsfähigkeit, Resistenz gegenüber exogenen Einwirkungen - dagegen relativ leichte Beeinflußbarkeit der Amplitude und daher lange Einschwingzeit bis zum Erreichen des jeweiligen Amplituden-Endwertes nach Oszillationsbeginn bzw. späteren Eingriffen in den rhythmischen Ablauf.

Bemerkenswert ist nun, daß die Minutenrhythmik - frequenzmäßig in Mittelstellung auf der Skala rhythmischer Vorgänge - hinsichtlich der geschilderten Kriterien eher Verwandtschaft mit den Langzeitrhythmen des Gesamtorganismus (z.B. Tagesrhythmik) als mit der höherfrequenten Gewebeeigenrhythmik zeigt.

An einigen Beispielen sei diese Tendenz noch einmal aufgezeigt:

Neben der relativ langen Zeit, die das Präparat nach seiner Einbringung in die Meßanordnung gewöhnlich zur Ausprägung gleichmäßig hoher Amplituden benötigt (Einschwingzeit), ist die unter Normalbedingungen weitgehend konstante oder aber zumindest dem Prinzip der ganzzahligen Normierung unterworfenen Frequenz auffällig (Abb. 6, 7, 8; Kapitel IV/1a). Gerade das zuletzt erwähnte Phänomen ist besonders von langperiodischen Rhythmen her bekannt (HILDEBRANDT 1958, 1962, 1967; BÜNNING 1963). Weiterhin zählt zu den charakteristischen Eigenschaften der Pendelschwingung die oben erwähnte ausgeprägte Frequenzstabilität auch gegenüber exogenen Einflüssen. Daß z.B. die "langsamen Tonuschwankungen" isolierter Intestinal-Muskulatur auffallend wenig Dehnungsabhängigkeit zeigten, beobachtete bereits MAGNUS (1904). Eigene Untersuchungen (vgl. Abb. 13) und Ergebnisse von GOLENHOFEN (1968, unveröffentlicht) weisen auf weitgehende Unabhängigkeit der Minutenrhythmik der *Taenia coli* von der Präparat-

Vorspannung hin - bei dagegen deutlicher Beeinflußbarkeit der Spike-Aktivität (vgl. a. BÜLBRING 1957).

In diesem Zusammenhang sei ein interessanter Befund von ABDERHALDEN u. GELLHORN (1920) erwähnt: Sie beobachteten Dehnungsabhängigkeit der Kontraktionsfrequenz des Herz-Streifenpräparates, dagegen Unabhängigkeit der gelegentlich auftretenden langsameren Luciani-Perioden, auf deren mögliche Verwandtschaft mit der Minutenrhythmik der glatten Muskulatur eingangs hingewiesen wurde (s.Kap. II/3.).

Resistenz der Minutenrhythmik gegenüber bestimmten Änderungen der Nährlösung (z.B. Variation des pO_2 und der Ca^{++} -Konzentration) stellte GOLENHOFEN (1967) an der *Taenia coli* fest. Frequenzstabilität gegenüber Temperaturänderungen, wie wir sie für die Minutenrhythmik gefunden haben, ist bei den langperiodischen Rhythmen (z.B. bei der endogenen circadianen Rhythmik) ein oft beschriebenes Phänomen (BÜNNING 1958, 1963; RAWSON 1960; SWEENEY u. HASTINGS 1960).

So läßt die in der vorliegenden Arbeit geschilderte Temperaturunabhängigkeit der Minutenrhythmik, eingegliedert in die Reihe der übrigen erwähnten Befunde, den Gedanken an eine evtl. nicht lediglich auf formale Ähnlichkeit beschränkte Beziehung zwischen Minuten- und Langzeitrhythmik aufkommen. In dieser Hinsicht dürfte die Tatsache von besonderer Bedeutung sein, daß langperiodische Rhythmen, obwohl sie gewöhnlich zwar den Organismus in toto betreffen, auch am isolierten Gewebs-Präparat nachgewiesen werden konnten: BÜNNING (1958) beobachtete deutliche temperaturunabhängige Tagesrhythmik an Dünndarm-Präparaten vom Goldhamster und schloß daraus auf das Vorhandensein einer zellulären, nicht an zentralnervöse Steuerung gebundenen tagesrhythmischen "Uhr".

Die Möglichkeit ist daher nicht auszuschließen, daß die Minutenrhythmik, deren eigentliche Bedeutung als grundsätz-

liche Eigenschaft nahezu sämtlicher glattmuskulären Strukturen - wie einleitend erwähnt - bisher unklar ist, auch funktionelle Verwandtschaft zu den langperiodischen Rhythmen aufweist. Als "Haltepunkt" im Mittelwellenbereich, der in sich ganzzahlig koordiniert ist (HILDEBRANDT 1967), könnte sie der Festlegung bestimmter zeitlicher Ordnungen dienen, im Organismus also die Rolle eines zellulären Taktgebers, gleichsam des "Minutenzeigers einer inneren Uhr" übernehmen und damit eine Anpassung der Peripherie an die zentrale rhythmische Steuerung des Gesamtorganismus bewirken (vgl. a. GOLENIOWEN 1969).

Eine derartige Zuordnung ließe die Frequenzstabilisierung der minutenrhythmischen Zeitgeber-Periodik gegenüber Temperaturänderungen als ein zumindest für heterotherme Organismen dringliches Erfordernis, für Warmblüter allerdings wohl weniger bedeutsames, u.U. vor allem entwicklungsgeschichtlich interessantes Phänomen erscheinen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In 2 gesonderten Versuchsreihen wurde der Einfluß von Temperatursenkungen auf die Spontanaktivität von Präparaten der glatten Längsmuskulatur des Meerschweinchen-Caecums (*Taenia coli*) untersucht. Mechanische Spannungsentwicklung und elektrische Aktivität wurden gleichzeitig registriert, letztere auf unterschiedliche Weise: a) durch extrazelluläre Potentialableitung; b) durch intrazelluläre Potentialableitung mit Glas-Mikroelektroden.

Unter normalen Bedingungen äußert sich die Spontanaktivität bei extrazellulärer Potentialmessung in Form rhythmischer, relativ hochfrequenter Membran-Depolarisationen (Aktionspotentiale oder "Spikes": ca. 66/min), deren Folge in der Regel durch eine langsamere Periodik (Minutenrhythmik: ca. 0,25 - 1/min) phasisch untergliedert wird. Zusätzlich zeigt sich bei intrazellulärer Ableitung die Minutenrhythmik in langsamen Fluktuationen des basalen Membranpotentials (mit einer Amplitude zwischen 10 und 30 mV), die mit der periodischen Spike-Entladung synchronisiert sind: Jeweils in die Phase der Depolarisation fällt eine spontane Spike-Salve. Die mechanische Spannungsentwicklung ist an die elektrische Aktivität gebunden, durch die minutenrhythmischen Spike-Salven werden tetanische Spontankontraktionen induziert.

Im Gegensatz zur Spike-Frequenz, die deutliche Modulationsfähigkeit besitzt, zeichnete sich in unseren Untersuchungen die Minutenrhythmik durch weitgehende Frequenz-Konstanz aus. Gelegentlich auftretende spontane Perioden-Alterationen erwiesen sich als ganzzahlige Multiple der primären Phasenlänge und lassen die minutenrhythmische Frequenz an Normwerte innerhalb eines typischen Bandenspektrums fixiert erscheinen.

Die Spike-Rhythmik zeigt ausgeprägte Temperaturabhängigkeit. Ausgehend von 35⁰ C fand sich bei stufenweisen Temperatur-

senkungen bis auf ca. 20° C eine kontinuierliche Abnahme der stationären Frequenz ($Q_{10} = 3,39$; $G = \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 0,35$), die sich bei weiterer Kühlung bis zum Erlöschen der Spontanaktivität (zumeist zwischen 17 und 14° C) fortsetzte oder - häufiger - unterhalb von 20° C in sprunghafte Änderungen durch ganzzahlige Perioden-Vervielfachungen übergang.

Die Minutenrhythmik dagegen offenbarte auffallende Frequenzstabilität gegenüber Temperaturänderungen ($Q_{10} = 1,05$; $G = \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 0,17$). Nahezu konstante Periodenlängen wurden in einigen Fällen innerhalb des gesamten Meßbereiches beobachtet, bis bei tiefen Temperaturen die erheblich verlangsamte Spike-Rhythmik mit der praktisch unveränderten Minutenrhythmik zusammenfiel, also lediglich ein Solitär-Spike einer minutenrhythmischen Welle zuzuordnen war. Unterhalb dieser kritischen Temperatur kam es zum Erlöschen der Spontanität. Die Minimalfrequenz der Spike-Aktivität entspricht somit der Normalfrequenz der Minutenrhythmik. Häufig wurde im mittleren Temperaturbereich die Minutenrhythmik vorübergehend undeutlich oder schwand völlig durch Verschmelzung der phasischen zu kontinuierlicher Spike-Entladung. Spätestens in der Grenzfrequenz der Spike-Aktivität aber trat auch in solchen Fällen die ursprüngliche, frequenzmäßig weitgehend unveränderte Periodik wieder hervor.

Langsame minutenrhythmische Membranpotential-Oszillationen waren im tiefen Temperaturbereich trotz der in Spike-Rhythmik und mechanischer Aktivität manifesten Periodik nicht nachzuweisen und sind daher wohl kaum als notwendige Voraussetzung, sondern eher als Begleiterscheinung der Minutenrhythmik bei Normaltemperatur zu deuten.

Das beobachtete Phänomen der ausgeprägten Frequenzstabilisierung gegenüber Temperaturänderungen fügt sich gut in die Reihe der übrigen Charakteristika der Minutenrhythmik. Die Summe aller Befunde läßt den Versuch einer genaueren

Positionsbestimmung dieser speziellen, an den meisten glattemuskulären Strukturen hervortretenden Form der Spontanrhythmik innerhalb des Gesamtverbandes biologischer Rhythmen zu. Mit der Frequenzkonstanz besitzt die Minutenrhythmik spezifische Merkmale von langperiodischen Rhythmen. Die mögliche funktionelle Bedeutung einer derartigen stabilen Periodik innerhalb des Mittelwellen-Bereiches wird diskutiert. -

A N N A N G

TABELLEN

Tabelle 1 Spike-Frequenz bei Normaltemperatur und nach Kühlung mit den zugehörigen Q_{10} -Werten. Der jeweils 2. Frequenzwert wurde für Temperaturen bestimmt, bei denen noch keine diskontinuierliche Frequenzminderung aufgetreten war.

Vers. Nr.	Temperatur ($^{\circ}\text{C}$)	Spike-Frequenz (min^{-1})	Q_{10} -Wert
1	35	95	3,75
	21,5	16	
2	35	76	3,72
	21	12	
3	35	54	4,2
	21	7,2	
4	35	66	3,2
	20	11	
5	35	57	3,56
	25	16	
6	35	45	2,72
	20	10	
7	35	63	3,15
	25	20	
8	35	74	3,34
	20	12	
9	35	54	3,06
	20	10,2	
10	36	62	3,34
	25	16,5	
11	35	66	3,32
	25	13	
12	35	58	2,92
	22,5	10	
13	35	56	3,3
	25	17	
14	38	66	3,5
	25	13	
16	35	52	3,25
	25	16	
17	35	46	3,08
	20	8,5	

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Vers. Nr.	Temperatur ($^{\circ}\text{C}$)	Spike-Frequenz (min^{-1})	Q_{10} -Wert
18	35	80	3,8
	25	21	
19	35	60	3,0
	20	11,5	
22	35	60	3,1
	25	14	
23	35	90	4,3
	25	21	
24	35	70	3,58
	20	11	

Mittelwert: 3,39

: + 0,35
-

Tabelle 2 Frequenz der Minutenrhythmik bei Normaltemperatur und nach Kühlung mit den zugehörigen Q_{10} -Werten. (Bei Versuchen mit vorübergehendem Schwinden der Minutenrhythmik - Typ B - wurden für tiefe Temperaturen die Grenz-Frequenzwerte angegeben.)

Vers. Nr.	Temperatur (°C)	Minutenrhythmik (bzw. Grenz-Frequenz für Typ B) (min ⁻¹)	Q_{10} -Wert
2	35	0,5	1,33
	19	0,32	
3	35	0,75	1,14
	17	0,68	
4	35	0,45	1,24
	16,4	0,3	
6	35	0,62	0,92
	18	0,72	
8	35	0,44	1,34
	17	0,26	
9	35	0,5	1,08
	17	0,44	
10	36	0,34	1,21
	15	0,23	
12	35	0,3	1,02
	15	0,29	
13	35	0,28	1,02
	15	0,27	
14	38	0,6	0,86
	16,5	0,8	
15	35	0,27	0,85
	16,5	0,3	
18	38	0,41	1,0
	14,5	0,41	
19	25	0,55	0,70
	16	0,7	
23	20	0,20	1,0
	16	0,24	
24	22	1,25	0,83
	16	1,25	
Mittelwert:			1,05
			$\pm$ 0,17

LITERATURVERZEICHNIS

- ABDERHALDEN, E. u. E.GELLHORN: Das Verhalten des Herzstreifenpräparates (nach Loewe) unter verschiedenen Bedingungen.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 183, 303-332 (1920)
- BARKROFT, J., L.C.KHANA u. Y.NISIMARU: Rhythmical contraction of the spleen.
J.Physiol.(Lond.) 74, 294-298 (1932)
- BERKSON, J.: Electromyographic studies of the gastrointestinal tract.
Amer.J.Physiol. 104, 62-66 (1933)
- BETHE, A.: Allgemeine Physiologie.
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1952)
- BORTOFF, A.: Slow potential variations of small intestine.
Amer.J.Physiol. 201, 203-208 (1961)
- BOZLER, E.: The action potentials of visceral smooth muscle.
Amer.J.Physiol. 124, 502-510 (1938)
- BOZLER, E.: Electrophysiological studies of the motility of the gastrointestinal tract.
Amer.J.Physiol. 127, 301-307 (1939)
- BRECHT, K.: Muskelphysiologie.
In KEIDEL, W.D.: Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart (1967)
- BRECHT, K., J.A.ESTADA u. A.GÜTZ: Zur Beeinflussung der Gefäßmotorik durch Ca^{++} - und K^{+} -Ionen.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 279, 330-340 (1964)
- BROEMSEN, P.: Der thermische Reiz.
Handb.norm.u.path.Physiol. I, 296-300
Julius Springer Berlin (1927)
- BÜLBRING, E.: Membrane potentials of smooth muscle fibres of the taenia coli of the guinea-pig.
J.Physiol.(Lond.) 125, 302-315 (1954)

- BÜLBRING, E.: The action of humoral transmitters on smooth muscle.
Brit.Med.Bull. 13, 172-175 (1957a)
- BÜLBRING, E.: Changes in configuration of spontaneously discharged spike potentials from smooth muscle of the guinea-pig's taenia coli. The effect of electronic currents and of adrenaline, acetylcholine and histamine.
J.Physiol.(Lond.) 135, 412-425 (1957b)
- BÜLBRING, E.: Physiology and Pharmacology of intestinal smooth muscle.
Lect.sci.Basis Med. 7, 374-397 (1959)
- BÜLBRING, E.: Die Physiologie des glatten Muskels.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 273, 1-17 (1961)
- BÜLBRING, E.: Electrical activity in intestinal smooth muscle.
Physiol.Rev. 42, 160-174 (1962)
- BÜLBRING, E., G.BURNSTOCK u. M.E.HOLMAN: Excitation and conduction in the smooth muscle of the isolated taenia coli of the guinea-pig.
J.Physiol.(Lond.) 142, 420-437 (1958)
- BÜLBRING, E. u. K.GOLENHOFEN: Oxygen consumption by the isolated smooth muscle of guinea-pig taenia coli.
J.Physiol.(Lond.) 193, 213-224 (1967)
- BÜLBRING, E. u. I.N.HOOTON: Membrane potentials of smooth muscle fibres in the rabbit's sphincter pupillae.
J.Physiol.(Lond.) 125, 292-301 (1954)
- BÜLBRING, E. u. H.KURIYAMA: The effect of adrenaline on the smooth muscle of guinea-pig taenia coli in relation to the degree of stretch.
J.Physiol.(Lond.) 169, 198-212 (1963)

- BÜNNING, E.: Das Weiterlaufen der physiologischen Uhr
im Säugerdarm ohne zentrale Steuerung.
Naturwissenschaften 45, 68 (1958)
- BÜNNING, E.: Die physiologische Uhr.
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1963)
- BÜRGI, S.: Zur Physiologie und Pharmakologie der
überlebenden Arterie.
Helv.physiol.pharmacol.Acta 2, 345 (1944)
- BÜRGI, S.: Förderung, Hemmung und Desorganisation der
arteriellen Eigenrhythmen.
Helv.physiol.pharmacol.Acta 3, 215-229 (1945)
- BURTON, A.C.: The range of variability of the blood flow
in the human fingers and the vasomotor regulation
of body temperature.
Amer.J.Physiol. 127, 437-453 (1939)
- DELGADO, J.M.R.: Electrodes for extracellular recording
and stimulation.
In NASTUK, W.L.: Physical techniques in biological
research. V, 88-143
Academic Press New York-London (1964)
- DEMMLING, L. u. G.R.GROMOTKA: Über eine unblutige kalori-
metrische Methode zur fortlaufenden Bestimmung
der enteroportalen Durchblutung.
Dtsch.Med.Wo.-Zeitschr. 82, 1826-1828 (1957)
- FRANK, K. u. M.C.BECKER: Microelectrodes for recording
and stimulation.
In NASTUK, W.L.: Physical techniques in biological
research. V, 22-87,
Academic Press New York-London (1964)

- FULL, E.: Versuche über die automatische Bewegung der Arterien.
Zeitschr.Biol. 61, 287 (1913)
- GOLENHOFEN, K.: Zur Reaktionsdynamik der menschlichen Muskelstrombahn.
Arch.Kreisl.-Forsch. 38, 202-233 (1962a)
- GOLENHOFEN, K.: Physiologie des menschlichen Muskelkreislaufes.
Marb.Sitzungsber. 83/84, 167-254 (1962b)
- GOLENHOFEN, K.: Rhythmische Dehnung der glatten Muskulatur vom Blinddarm des Meerschweinchens.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 284, 327-346 (1965)
- GOLENHOFEN, K.: Untersuchungen zur Minuten-Rhythmik der glatten Muskulatur an der isolierten Taenia coli des Meerschweinchens.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 292, 34-45 (1966)
- GOLENHOFEN, K.: Elektrophysiologische Untersuchungen zur Minuten-Rhythmik der glatten Muskulatur (Taenia coli des Meerschweinchens).
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharm. 257, 277 (1967)
- GOLENHOFEN, K.: Slow rhythm in smooth muscle (Minute Rhythm).
Im Druck (1969)
- GOLENHOFEN, K. u. G.HILDEBRANDT: Über spontan-rhythmische Schwankungen der Muskeldurchblutung.
Z.Kreisl.-Forsch. 46, 257-270 (1957a)
- GOLENHOFEN, K. u. G.HILDEBRANDT: Zur Ursache spontaner Muskeldurchblutungsschwankungen im 1-Minutenrhythmus.
Verh.dtsch.Ges.Kreisl.-Forsch. 23, 380-385 (1957b)

- GRAF, K., W.GRAF u. S.ROSELL: Spontan-rhythmische und unregelmäßige Schwankungen der Leberdurchblutung des Menschen.
Acta physiol.scand. 43, 233-253 (1958)
- HANNAPPEL, J. u. K.GOLENHOFEN: Die Eigenfrequenz der Darmmuskulatur in Beziehung zu Atem- und Pulsfrequenz bei Meerschweinchen verschiedener Altersklassen.
Im Druck, Pflügers Arch.ges.Physiol (1969)
- HESS, E., K.BRAND u. P.KENDALL: Continuous oscillations in a cell-free extract of *S. Carlsbergensis*.
Biochem.biophys.Res.Comm. 13, 1 (1966)
- HILDEBRANDT, G.: Grundlagen einer angewandten **medizinischen** Rhythmus-Forschung.
Heilkunst 71, 117-124 (1958)
- HILDEBRANDT, G.: Rhythmus und Regulation.
Med.Welt 1961, 73-81
- HILDEBRANDT, G.: Rhythmische Koordination als Ordnungsprinzip biologischer Funktionen.
Umschau 62, 592-596 (1962)
- HILDEBRANDT, G.: Die Koordination rhythmischer Funktionen beim Menschen.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 73, 921-941 (1967)
- HILDEBRANDT, G. u. K.GOLENHOFEN: Zur Physiologie der Muskelruhedurchblutung des Menschen.
Arch.phys.Ther. 10, 217-223 (1958)
- HOFF, J.H.van't, Vorlesungen über theoretische und physikalische Chemie, Braunschweig 1909,
zitiert nach: BROEMSER (1927)
- KANITZ, A., Biol.Zentralbl. 27, II (1907),
zitiert nach: BROEMSER (1927)

KEYE, J.D., John Hopkins Hosp.-Bull. 34, 60 (1923),
zitiert nach: LOEWE (1926)

KREBS, H.A. u. K.HENSELEIT: Untersuchungen über die
Harnstoffbildung im Tierkörper.
Hoppe-Seglers Z.physiol.Chem. 210, 33-66 (1932)

LING, G. u. R.W.GERARD: The normal membran potential
of frog sartorius fibres.
J.cell.comp.Physiol. 34, 383-396 (1949)

LANGENDORF, O.: Untersuchungen über die Natur des periodisch
aussetzenden Rhythmus, insbesondere des Herzens.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 121, 54-74 (1908)

LION, K.S.: Transducers.
In NASTUK, W.L.: Physical techniques in biological
research. V, 234-275,
Academic Press New York-London (1964)

LOEWE, S.: Pharmakologische und hormonelle Beeinflussung
des Uterus.
Handb.norm.u.path.Physiol. XIV/I, 501-554 (1926)

LUCIANI, A.: Eine periodische Funktion des isolierten
Froschherzens.
Ber.d.sächs.Ges.d.Wissensch.math.-physik.Klasse (1873)

LUDWIG, E. u. E.LENZ, Zeitschr.Geburtsh.u.Gynäk. 86, 589
(1923),
zitiert nach: LOEWE (1926)

LUTZ, J.: Die Reaktion der Gefäßmuskulatur in situ auf
rhythmische Dehnungsreize.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 291, R22 (1966)

- MAGNUS, R.: Versuche am überlebenden Dünndarm von Säugetieren (1. u. 2. Mitteilung).
Pflügers Arch.ges.Physiol. 102, 123-151/349-363 (1904)
- MURALT, A.: Neuere Ergebnisse der Nervenphysiologie.
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1958)
- NASTUK, W.L.: Physical techniques in biological research.
Academie Press New York-London (1964)
- NASTUK, W.L. u. A.L.HODGKIN: The electrical activity of single muscle fibres.
J.cell.comp.Physiol. 35, 39-73 (1950)
- PRECHT, H., J.CHRISTOPHERSEN u. H.HENSEL: Temperatur und Leben.
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1955)
- PROSSER, C.L. u. A.BORTOFF: Electrical activity of intestinal smooth muscle under in vitro conditions.
Handbook of Physiology, Alimentary Canal IV,
2025-2050, Amer.Physiol.Soc., Washington, D.C.(1968)
- RAWSON, K.S.: Effects of tissue temperature on mammalian activity rhythm.
Cold.Spr.Harb.Symp.quant.Biol. 25, 105-113 (1960)
- ROY, C.S., J.Physiol.(Lond.) 3, 203 (1881)
zitirt nach: BARCROFT, KHANA u. NISIMARU (1932)
- SOLLBERGER, A.: Biological rhythm research.
Elsevier Publishing Company Amsterdam-London-New York (1965)
- SOMLYO, A.V., C.Y.WOO u. A.P.SOMLYO: Response of nerve-free vessels to vasoactive amines and polypeptides.
Amer.J.Physiol. 208, 748-753 (1965)

- STEPANOW, G.J., Skand.Arch.Physiol. 38, 1 (1919)
zitiert nach: BÜRGI (1945)
- STUTTE, K.: Untersuchungen über die Phasenkopplung zwischen
Herzschlag und Atmung beim Menschen.
Inaug.Diss.Narburg (1967)
- SWEENEY, B.M. u. J.W.LASTINGS: Effect of temperature upon
diurnal rhythm.
Cold.Spr.Harb.Sympos.quant.Biol. 25, 87-104 (1960)
- WEITZ, W. u. W.VOLLERS: Studien über Magenbewegungen.
Z.ges.exp.Med. 47, 42-69 (1925)
- WEITZ, W. u. W.VOLLERS: Über rhythmische Kontraktionen der
glatten Muskulatur an verschiedenen Organen (Magen,
Darm, Harnblase, Scrotum, Penis, Uterus, Milz,
Gefäße).
Z.ges.exp.Med. 52, 723-746 (1926)
- WEVER, R.: Zum Mechanismus der biologischen 24-Stunden-
periodik.
Kybernetik 1, 139-154 (1962)
- WOODBURY, J.W. u. A.J.ERLY: Intracellular recording from
moving tissues with a flexibly mounted ultra-
microelectrode.
Science 123, 100-101 (1955)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med.
K. Golenhofen für die Themenstellung, sein ständiges
Interesse und seine freundliche Unterstützung im
Verlauf der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. H. Hensel, dem Direktor des
Physiologischen Institutes der Universität Marburg,
danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes.

Weiterhin danke ich Frau D. Jenett für ihre Hilfe
bei der Anfertigung der Abbildungen.

LEBENS LAUF

Am 23.12.1939 wurde ich in Hannover als Sohn des Sachbearbeiters Walter von Loh und seiner Ehefrau Gertrud geboren. In Hannover besuchte ich vier Jahre die Volksschule, anschließend das humanistische Ratsgymnasium, von dem ich später auf ein mathematisch-naturwissenschaftliches Gymnasium, die Lutherschule, überwechselte. Hier legte ich am 25.2.1960 die Reifeprüfung ab. Zum Wintersemester 1960/61 immatrikulierte ich mich an der Philipps-Universität in Marburg a.d.Lahn, wo ich 1963 die ärztliche Vorprüfung bestand. Das klinische Studium absolvierte ich in Marburg und an der Leopold-Franzens-Universität zu Innsbruck. Während zweier Urlaubssemester arbeitete ich als wissenschaftliche Hilfskraft am Physiologischen Institut der Universität Marburg. Das medizinische Staatsexamen legte ich im Anschluß an das Wintersemester 1967/68 in Marburg ab. Seit dem 1.9.1969 bin ich als Medizinalassistent am Physiologischen Institut der Universität Marburg tätig.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren
Professoren und Dozenten:

in Marburg:

Beckmann, Berendes, Dommer, Braun-Falco, Brück, Buchholz,
Bücher, Dimroth, Dölle, Drawert, Gedigk, Golenhofen,
Lamm, Hensel, Hildebrandt, Mohorst, Kessel, Klingenberg,
Lang, Linneweh, Lühr, Mahr, Mann, Martini, Marx, Mattes,
du Mesnil de Rochemont, Neubauer, Niessing, Petry, Petzold,
Rodeck, Rohen, Schleyer, Schlosser, Schmid, Schmidt,
Schrappe, Schwaiger, Seidel, Siegert, Siess, Staib, Vogt,
Walcher, Würterle,

in Innsbruck:

Baumgartner, Benger, Berger, Braunsteiner, Ganner,
Gögl, Halhuber, Huber, Heinz, Kirchmair, Konrad,
Lang, Platzgummer, Schinzel, Tapfer, Wunderer.

